

II Simpósio Nacional da
VACA LEITEIRA



ANAIS

Editores

Félix H. D. González
Pedro M. Mallmann Jr.

Porto Alegre, Brasil 2015

S612 Simpósio Nacional da Vaca Leiteira (2. : 2015 : Porto Alegre).

Anais do 2º Simpósio Nacional da Vaca Leiteira / Editores:
Félix H. D. González, Pedro M. Mallmann Júnior. – Porto Alegre,
2015. vii, 274 p. ; il.

ISBN 978-85-66094-09-1

1. Medicina veterinária : vacas leiteiras I. González, Félix H. D.
II. Mallmann Júnior, Pedro M.

CDD 636.2

Catálogo na fonte: Ana Vera Finardi Rodrigues – CRB 10/884



Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Veterinária
Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias
Av. Bento Gonçalves, 9090, Porto Alegre
RS 91540-000 Brasil
Fone: +55-51-33086099.
<http://www.ufrgs.br/lacvet/>



Editores

Félix Gonzalez, MV, Dr

Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias. Professor Titular, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Bento Gonçalves 9090. Porto Alegre, RS, Brasil. 91.540-000 felix.gonzalez@ufrgs.br

Pedro M. Mallmann Jr.

Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Bento Gonçalves 9090. Porto Alegre, RS, Brasil. 91.540-000
pedromjunior@gmail.com

Autores contribuintes

Juan Kruze, DVM, PhD

Laboratorio de Mastitis, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
jkruze@uach.cl

Fernando G. Wittwer, MV, MVSc

Laboratório de Patologia Clínica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile fwittwer@uach.cl

Carlos Bondan, MV, Dr

Serviço de Análises de Rebanhos Leiteiros, Professor, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Brasil.

cbondan@upf.br

Mirela Noro, MV, DrCVet

Professora Adjunta, Universidade Federal do Pampa, Uruguaiiana, Brasil.

mirelanoro@gmail.com

Giovani Noro, MV, MSc

Tortuga Companhia Zootécnica Agrária, Porto Alegre, Brasil.

giovani.noro@tortuga.com.br

Rodrigo de Almeida, MV, Dr

Professor Associado, Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.

ralmeida@ufpr.br

Jessica Karina Poncheki, Zoot, MSc

Doutoranda, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.

jessicaponcheki@zootecnista.com.br

Jorge Henrique Carneiro, Zoot

Analista Técnico, Cooperativa Castrolanda Agroindustrial, Curitiba, Brasil.

jorge_carneiro@castrolanda.coop.br

Eduardo Schmitt, MV, PhD

Professor Adjunto, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Pelotas, Brasil.

schmitt.edu@gmail.com

Paula Montagner, MV, MSc

Doutoranda, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão, Pelotas, Brasil.

paulamontagner@gmail.com

María Cecilia Cajarville, MV, Dr

Profesora Titular, Departamento de Nutrición, Instituto de Producción Animal de Veterinaria, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

ccajarville@gmail.com

Márcio Nunes Correa, MV, Dr

Professor Associado, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Coordenador do Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC), Pelotas, Brasil.

marcio.nunescorrea@gmail.com

Camila Pizoni

Joabel Tonelotto dos Santos

Patrícia Mattei

Rafael da Fonseca Prietsch

Uriel Secco Londero

Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Veterinária, Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC), Pelotas, Brasil.

www.ufpel.edu.br/nupeec

Luis Barros, DrVet, MScV, PhD

Professor Titular, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

luisb@vera.com.uy

Felipe Cardoso, MV, PhD

Assistant Professor, Dairy Research and Extension, Department of Animal Sciences, University of Illinois, Urbana, IL, USA.

cardoso2@illinois.edu

Angélica Petersen Dias

Anne Rosi Guadagnin

Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto

Alegre, Brasil

angelicap.dias@gmail.com

anneguadagnin@yahoo.com.br

Comissão Organizadora

Felix Gonzalez

Bruna Panzardi Kappel

Bruno Gomes de Campos

Luiza Carolina Meira Mendes

Luiza Rodegheri Jacondino

Marcela Kuczynski da Rocha

Pedro Marino Mallmann Júnior

Silvana Mahl Rauber

Diagramação

Bruno Gomes de Campos

Capa e Contra-cap

Bruno Gomes de Campos

Dedicamos este trabalho ao saudoso professor Paulo Mühlbach (1946 – 2014), que desde sua cátedra de Produção e Nutrição da Vaca Leiteira na Universidade Federal do Rio Grande do Sul formou e orientou muitos dos profissionais que hoje atuam de forma destacada na bovinocultura leiteira brasileira.

Sumário

<i>Prefácio</i> _____	1
<i>Etiología de mastitis bovina: características de los patógenos más relevantes</i> _____	3
Juan Kruze	
<i>Marcadores bioquímicos sanguíneos en el diagnóstico y control de trastornos metabólicos en vacas lecheras</i> _____	34
Fernando G. Wittwer M.	
<i>Variações na qualidade composicional do leite no Rio Grande do Sul</i> _____	63
Carlos Bondan	
<i>Acidose ruminal subaguda: Monitoramento e prevenção nos rebanhos leiteiros</i> _____	94
Mirela Noro	
Giovani Noro	
<i>Manejo nutricional da vaca leiteira para otimizar a composição do leite</i> _____	122
Jessica Karina Poncheki	
Jorge Henrique Carneiro	
Rodrigo de Almeida	
<i>Imunidade da vaca leiteira: desafios metabólicos</i> _____	161
Eduardo Schmitt	
Paula Montagner	
<i>Fundamentos y aplicaciones para la alimentación proteica de vacas lecheras</i> _____	185

Cecilia Cajarville

Cetose clínica e subclínica: manejo, diagnóstico e efeitos no leite _____ **200**

Marcio Nunes Corrêa

Camila Pizoni

Joabel Tonello dos Santos

Patrícia Mattei

Rafael da Fonseca Prietsch

Uriel Secco Londero

Hipocalcemia e hipomagnesemia em vacas lecheras: diagnóstico y control _____ **221**

Luis Barros Vidal

Deslocamento de abomaso em vacas leiteiras: ocorrência, manejo e indicadores diagnósticos _____ **255**

Angélica Petersen Dias

Anne Rosi Guadagnin

Felipe Cardoso

Prefácio

A presente publicação reúne as palestras proferidas durante o 2º Simpósio Nacional da Vaca Leiteira, que o Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias, da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, organizou em outubro de 2015 na cidade de Porto Alegre. Trata-se da continuidade desta atividade de formação continuada, iniciada em 2014, nas áreas de clínica, nutrição e metabolismo da vaca leiteira, que exigem atualização de conhecimento de forma paralela ao crescimento da produção e da produtividade leiteira na Região Sul do Brasil. Nesta ocasião, participaram pesquisadores e docentes de universidades do Brasil (Universidade Federal do Paraná, Universidade Federal de Pelotas, Universidade Federal do Pampa e Universidade de Passo Fundo), Chile (Universidade Austral do Chile), Uruguai (Universidade de La República) e Estados Unidos (Universidade de Illinois), que abordaram temas sobre nutrição e qualidade do leite, imunidade, mastite, acidose ruminal subaguda, hipocalcemia e hipomagnesemia, cetose clínica e subclínica, deslocamento de abomaso, diagnóstico de transtornos metabólicos através do perfil metabólico e variações na qualidade do leite.

O propósito do evento é estimular a continuação desta série de atividades que permitam a reciclagem de conhecimentos em buiatria leiteira, atualizando os profissionais cada vez mais exigentes em atividades de profundização. A atividade contou com a organização e

logística dos alunos de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul formandos em 2016/1.

Nosso mais sincero agradecimento aos professores e pesquisadores que atenderam ao nosso chamado. Especiais agradecimentos também às empresas e instituições que se vincularam e apoiaram este evento:

Bayer Animal Care, Zoetis, MSD Saúde Animal, Adisseo, KetoVet, Kera Nutrição Animal, McHale, Rumitec Serviços Veterinários, Calbos Saúde Animal, Agropecuária Econômica de Bom Retiro do Sul, Universidade UniRitter (Laureate International Universities), Conselho Regional de Medicina Veterinária do Rio Grande do Sul, Pró-reitoria de Extensão da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Gadolando, Milkpoint e Sindilat-RS.

Os editores
Porto Alegre, outubro de 2015

Etiología de mastitis bovina: características de los patógenos más relevantes¹

Juan Kruze

Universidad Austral de Chile

Introducción

A pesar del progreso que se ha logrado a nivel internacional en el control de mastitis, esta patología de la glándula mamaria continúa siendo una de las enfermedades más frecuentes y más costosas de las vacas lecheras. En realidad, es difícil encontrar un solo rebaño lechero, independientemente de su tamaño y nivel de producción, que esté completamente libre de la enfermedad. La mastitis afecta económicamente al productor de dos maneras: costos directos y costos indirectos. Los costos directos se relacionan con la pérdida económica por leche descartada proveniente de vacas con mastitis y el costo de los medicamentos para el tratamiento de los casos clínicos, mientras que los costos indirectos están asociados a la menor producción de leche por el daño del tejido mamario o por la existencia de infecciones subclínicas, mayores tasas de eliminación y reemplazo con pérdida de potencial genético, muerte de animales con mastitis clínicas severas, y por las

¹ Kruze, J. 2015. Etiología de mastitis bovina: características de los patógenos más relevantes. II Simpósio Nacional da Vaca Leiteira. Anais. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p.3-33.

penalizaciones aplicadas en los esquemas de pago por calidad higiénica debido a un aumento en el recuento celular. Hay que considerar, además, el riesgo adicional de un elevado recuento bacteriano y el riesgo de residuos antibióticos en la leche de estanque enviada a planta, los cuales también están sujetos a fuertes penalizaciones (Philpot y Nickerson 2000).

Tipos de mastitis

Tradicionalmente se reconocen dos tipos de mastitis: las clínicas, que afectan principalmente la salud del animal tanto a nivel sistémico como glandular, y las subclínicas que afectan la producción del animal tanto en cantidad como en calidad. Sin embargo, es importante recordar también que, desde un punto de vista epidemiológico, las mastitis se pueden clasificar en contagiosas y ambientales. En las mastitis contagiosas el principal reservorio de infección es la glándula mamaria infectada y la transmisión ocurre principalmente durante el proceso de la ordeña; los rebaños con alta incidencia de mastitis contagiosa generalmente tienen un alto recuento de células somáticas en la leche del estanque pero un recuento bacteriano normal y una baja incidencia de mastitis clínica; las mayores pérdidas están asociadas con menor producción por infecciones subclínicas y las medidas más eficientes de control son el *dipping* post ordeña y la terapia de secado (Philpot y Nickerson 2000). Por el contrario, en las mastitis ambientales el principal reservorio de infección es el medio ambiente que rodea al animal (suelo, material de las camas, material fecal), y la transmisión de

los patógenos desde el ambiente a los pezones de las vacas ocurre en los períodos de inter-ordeña. Los rebaños con una alta incidencia de infecciones intramamarias por patógenos ambientales tienen una elevada tasa de mastitis clínica y elevado recuento bacteriano pero un recuento de células somáticas dentro de límites normales; en estos casos la mayores pérdidas económicas están asociadas con las mastitis clínicas (Philpot y Nickerson 2000). Debido a que la mayoría de las neoinfecciones por patógenos ambientales se producen durante el inicio del período seco, tanto la terapia de secado como el uso de selladores de pezones son importantes medidas profilácticas; el *dipping* pre-ordeña es también una medida importante de control. Estos cuadros de mastitis pueden ser causados por una gran variedad de microorganismos, incluyendo bacterias, hongos y algas, los cuales se pueden clasificar en organismos específicos, los más frecuentes, y organismos misceláneos, los menos frecuentes pero no menos importantes (Hogan et al., 1999; Oliver et al., 2004; Blowey y Edmonson, 2010).

Microorganismos específicos causantes de mastitis

Estos agentes pueden causar mastitis clínica y subclínica y pueden ser contagiosos o ambientales. Se pueden clasificar en patógenos mayores, responsables de la mayoría de los casos de mastitis, entre los cuales destacan *Staph.aureus*, *Strep.agalactiae*, *Strep.dysgalactiae*, *Strep.uberis* y algunas especies de bacterias coliformes (especialmente *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*), y en patógenos menores, los que pueden colonizar el pezón y la glándula mamaria sin causar

inflamación , pero que ocasionalmente pueden causar severos cuadros de mastitis clínicas, entre los cuales destacan los estafilococos coagulasa negativo (SCN) y *Corynebacterium bovis*. La frecuencia de aislamiento de estos patógenos varía en los diferentes países, regiones, o rebaños, dependiendo de las medidas de control en práctica en cada caso.

Staphylococcus aureus

Este agente vive en los cuartos mamarios infectados y en la piel de los pezones, especialmente en la punta del pezón. Son típicamente contagiosos y se transmiten de vaca a vaca durante la ordeña a través de las manos del ordeñador, paños comunes y pezoneras. Los cuadros subclínicos causan un elevado recuento celular en la leche y enormes pérdidas económicas por menor producción. Los cuadros clínicos agudos pueden ser moderados o muy severos (mastitis gangrenosa) con peligro de muerte del animal. Alrededor de un 10% de los casos se transforman en cuadros crónicos de larga duración con fibrosis glandular y repetidos episodios clínicos durante la lactancia (mastitis recurrente). El tratamiento antibiótico durante la lactancia es poco efectivo (15-20%) y responden mejor a la terapia de secado (>70%); la mejor manera de controlar estas infecciones es aplicando un buen *dipping* post ordeña, realizando terapia de secado a todos los animales, segregando los animales infectados y ordeñándolos al final, y eliminando los animales con infecciones crónicas (realizar palpación de glándula mamaria después de la ordeña). *Staph.aureus* sigue siendo el patógeno mamario

más frecuente en muchos países y también en el sur de Chile (USDA-APHIS, 2008; Kruze et al., 2013).

Streptococcus agalactiae

La fuente primaria de *Strep.agalactiae* es la glándula mamaria infectada (parásito intramamario obligado) y no sobrevive por mucho tiempo en el medio ambiente por lo cual es más fácil de controlar y erradicar. Sin embargo, es posible aislar este agente del tracto genital y gastrointestinal de humanos. *Strep.agalactiae* es muy contagioso y se transmite, igual que *Staph.aureus*, durante el proceso de la ordeña a través de las manos y paños comunes, produce principalmente mastitis subclínicas con elevados recuentos celulares en la leche y considerable reducción de la producción; responde bien al tratamiento durante la lactancia (60-95%) y a la terapia de secado (80-98%). La mejor manera de controlar estas infecciones es realizando un buen *dipping* y terapia de secado a todos los animales, usando toallas de papel individuales desechables antes de la ordeña para la higiene de ubres, ordeñando las vacas infectadas al final y evitando la introducción de vacas (reemplazo) con estatus desconocido de infección (hacer cultivo antes de comprar). La erradicación es posible en la mayoría de los casos, identificando los animales infectados (cultivo), tratando todos los animales infectados (penicilina) y eliminando los casos refractarios. Este patógeno ha sido prácticamente erradicado en la mayoría de los países con una industria lechera desarrollada (USDA-APHIS, 2008). Las medidas de control en práctica en Chile han hecho disminuir considerablemente la frecuencia

de este patógeno en los rebaños lecheros del sur de Chile, siendo muy raro su aislamiento (Kruze et al., 2013).

Streptococcus dysgalactiae

Este agente se puede comportar como un patógeno contagioso y ambiental y sobrevive muy bien en el medio ambiente pudiendo causar tanto cuadros clínicos como subclínicos. Coloniza frecuentemente la piel del pezón, especialmente cuando hay heridas causadas por la máquina de ordeño, cortes e infecciones virales, entre otras. También coloniza fácilmente el conducto del pezón pudiendo desarrollar severos cuadros clínicos. Se encuentra, además, en las tonsilas de animales sanos y el lamido puede transmitir la infección a los pezones; esto explicaría por qué *Strep.dysgalactiae* es un agente común de mastitis en vaquillas. Finalmente, otro vector importante de este agente son las moscas (especialmente la mosca de la cabeza *Hydrotaea irritans*), que son portadoras de *Strep.dysgalactiae* y pueden transmitir la infección a los pezones, especialmente cuando éstos tienen lesiones (Hogan et al., 1999). Para controlar las infecciones por *Strep.dysgalactiae* es recomendable mantener buenas prácticas de higiene del ambiente ya que la transmisión durante la ordeña es menos importante. *Strep.dysgalactiae* se aísla con relativa frecuencia de mastitis subclínica en el sur de Chile.

Streptococcus uberis

Considerado en el pasado como un estreptococo fecal, constituye hoy día, junto a *E.coli*, el patógeno ambiental más frecuente de mastitis bovina en muchos países, incluyendo a Chile (USDA-APHIS, 2008; Kruze et al., 2013). Aunque se aísla frecuentemente de casos subclínicos, los casos clínicos típicos se caracterizan por aparición brusca, cuartos endurecidos e hinchados, presencia de grumos de gran tamaño en la leche y, a menudo, con alza de temperatura corporal. Este agente está estrechamente asociado a las camas de paja donde se multiplica muy bien pudiendo originar una alta tasa de infección. Además de las camas de paja, *Strep.uberis* se encuentra en la piel de diferentes sitios corporales de las vacas como pezón, ubres, nariz, boca, labios, vientre, espaldas, recto, tracto genital y material fecal, constituyéndose en un organismo ubicuotario difícil de controlar. En un rebaño infectado, *Strep.uberis* se disemina rápidamente dentro del rebaño y la respuesta a la terapia antibiótica es pobre permaneciendo por largos períodos dentro de la glándula mamaria. Esto se puede deber a varias razones: resistencia a la fagocitosis, capacidad de invadir las células protegiéndose de la acción de los antibióticos, y penetración en los nódulos linfáticos constituyendo un reservorio de infección. *Strep.uberis* es uno de los patógenos más frecuentes responsables de neo-infecciones en el período seco, especialmente en las primeras y últimas dos semanas del período seco, y son las responsables de cuadros clínicos al inicio de la lactancia. *Strep.uberis* es un patógeno mamario

bastante frecuente en los rebaños lecheros del sur de Chile, sin dudas, el estreptococo más frecuente (Kruze et al., 2013).

Coliformes

Escherichia coli y *Klebsiella pneumoniae* son los dos agentes coliformes más frecuentemente asociados a cuadros de mastitis, siendo más común *E.coli*, el típico agente de mastitis ambiental. Menos frecuente son especies de otros Géneros como *Enterobacter* y *Citrobacter*. *E.coli* está presente en gran cantidad en las heces por lo que es muy común en vacas estabuladas, especialmente en invierno cuando hay mucha humedad y malas condiciones higiénicas. Se ha observado que existe una estrecha asociación entre mastitis por *E.coli* y el mal funcionamiento del equipo de ordeño debido fundamentalmente a que este patógeno penetra el conducto del pezón por propulsión durante la ordeña (efecto “impacto”), especialmente cuando se ordeñan pezones muy sucios. Sin embargo, la penetración de *E.coli* en el conducto del pezón no siempre origina un cuadro de mastitis ya que la mayoría de las infecciones no duran más de 10 días y se resuelven sin mediar un tratamiento antibiótico (autocuración). Los signos clínicos típicos de la mastitis coliforme son aumento de volumen y endurecimiento del cuarto mamario afectado con una típica secreción acuosa.

La respuesta del animal a la infección por *E.coli* es muy rápida y los organismos son rápidamente eliminados de la glándula mamaria mediante los mecanismos defensivos naturales de la vaca, dentro de 12-36 h. Esto explica los resultados negativos a los cultivos de casos

clínicos. En casos menos severos, el único signo visible es la presencia de algunos grumos en la leche que desaparecen en la ordeña siguiente. Debido a que *E.coli* no se adhiere al epitelio de los endotelios de las cisternas del pezón y de la glándula mamaria, como ocurre con *Staph.aureus* y *Strep.agalactiae*, es muy raro observar cuadros clínicos crónicos recurrentes. En algunas ocasiones (15%), *E.coli* puede inducir un shock endotóxico que puede terminar con la muerte del animal en pocas horas. El efecto tóxico se debe a la liberación de una endotoxina de la pared celular (LPS) que se libera cada vez que la bacteria se divide (cada 20 min), toxina que se libera incluso después que la bacteria muere. Este lipopolisacárido de la pared celular es la base de la vacuna J5, que se administra subcutáneamente en el momento del secado, 20 días más tarde y 2 semanas post parto, con una protección cercana al 80%. El principal efecto de esta vacuna es la reducción de los casos clínicos y una fuerte reducción de los casos tóxicos agudos (Hogan et al., 1992; Dosogne et al., 2002). El otro coliforme involucrado en cuadros de mastitis, *Klebsiella pneumoniae*, está presente en los ambientes húmedos y, especialmente, en las camas orgánicas a base de subproductos de la madera (viruta, aserrín). Puede causar severos cuadros tóxicos de mastitis cuando las vacas se estabulan en cubículos con estos productos. A diferencia de *E.coli*, es posible el desarrollo de mastitis crónicas que persisten por varias semanas o meses que no responden al tratamiento antibiótico.

Staphylococcus coagulasa-negativo (SCN)

Estos agentes son parte de la flora normal de la piel de las vacas y han sido tradicionalmente considerados como patógenos menores pero su importancia y frecuencia como agentes de mastitis subclínica ha aumentado considerablemente en muchos países. Actualmente en el centro y sur de Chile representan el segundo patógeno más frecuente después de *Staph.aureus*, responsables de alrededor del 30% de todos los casos de mastitis subclínica (Céspedes, 2014). Los SCN son considerados como patógenos oportunistas asociados más con mastitis subclínica que clínica y causan un moderado aumento del recuento de células somáticas en la leche. Sin embargo, en un trabajo reciente realizado en 22 rebaños lecheros del sur de Chile (Kruze et al., 2013,), se encontró que los SCN fueron responsables del 12,1% de todos los casos clínicos de mastitis. Este grupo de bacterias está constituido por más de 40 especies, entre las cuales las más frecuentemente aisladas de mastitis son *S.chromogenes*, *S.simulans*, *S.epidermidis* y *S.hyicus*. La identificación de estas especies no es habitual en los laboratorios de diagnóstico veterinario ya que se requieren kits bioquímicos especiales y técnicas moleculares (genotipificación) no siempre disponibles en estos laboratorios. Algunas de estas especies son muy contagiosas y otras son más virulentas que *Staph.aureus*. Los SCN comúnmente colonizan la piel del pezón y la punta y conducto del pezón, por lo que resulta difícil saber con certeza si es la causa de mastitis clínica o subclínica o simplemente un contaminante de la punta del pezón. De aquí la importancia de eliminar siempre los primeros chorros de leche y desinfectar apropiadamente la

punta del pezón cuando se toman muestras para examen bacteriológico. Si el resultado de un cultivo de leche de una vaca con elevado recuento celular origina un cultivo puro de SCN, es posible asumir que es el agente de la infección. Cuando un rebaño tiene una alta incidencia de infecciones por SCN es posible sospechar de un inadecuado *dipping* post ordeña o del uso de un producto germicida inefectivo, o simplemente que no se practica esta medida de higiene (Taponen, 2008).

Corynebacterium bovis

Este microorganismo lipofílico se aísla con mucha frecuencia de muestras de leche de vacas sin evidencias de mastitis ya que coloniza fácilmente el conducto de pezón. Por esta razón se utiliza mucho como indicador de un *dipping* defectuoso. *C. bovis* es muy contagioso, produce mastitis subclínica y en la mayoría de los casos la única manifestación clínica es un moderado aumento del recuento de células somáticas en la leche. Sin embargo, en algunas ocasiones puede producir cuadros clínicos. Infecciones por *C.bovis* pueden proteger contra infecciones por *Staph.aureus*. La terapia de secado es muy efectiva para eliminar estas infecciones y aquellos rebaños que realizan una apropiada desinfección de pezones post ordeña con productos efectivos, la prevalencia de infecciones por *C.bovis* es muy baja (Philpot y Nickerson, 2002).

Microorganismos misceláneos causantes de mastitis

Existe una enorme cantidad de otros microorganismos, más de 100, que no siendo específicamente patógenos de la glándula mamaria, pueden causar mastitis. Muchos de estos microorganismos no se diagnostican porque no crecen en los medios de cultivo convencionales utilizados para el diagnóstico de mastitis, o simplemente, no se reconocen porque no están familiarizados con sus características de cultivo. Como no es posible, ni es el propósito, analizarlos a todos ellos, en esta ocasión se revisarán los más frecuentes con especial énfasis en dos de ellos que constituyen hoy día un serio problema en otros países como son *Mycoplasma* y *Prototheca*.

Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium

Estas dos especies de *Enterococcus* (ex *Streptococcus*), son parte de la flora normal del tracto digestivo de las vacas y son contaminantes frecuentes de las muestras de leche. Sin embargo, se han descrito numerosos casos de mastitis clínicas muy severas causadas por estos microorganismos que, además, se caracterizan por ser muy resistentes a los antibióticos. En el laboratorio se pueden confundir fácilmente con *Strep.uberis* por compartir muchas características morfológicas y bioquímicas.

Bacillus cereus* y *Bacillus licheniformis

Estas dos especies del Género *Bacillus* ocasionalmente pueden producir mastitis clínicas agudas con severa alteración de la glándula mamaria. Sin embargo, hay que tener presente también que estos microorganismos están ampliamente diseminados en el aire, polvo, suelo, agua, vegetales y material fecal y son contaminantes frecuentes del conducto del pezón y no siempre asociados a cuadros de mastitis (importante eliminar los primeros chorros al tomar muestras para cultivo). *B.cereus* ha sido asociado con el uso de alimentos concentrados y *B.licheniformis* con los ensilajes cuando las vacas se echan cerca o encima de estos alimentos que fermentan rápidamente con el calor del animal. En ambos casos, es posible observar endurecimientos del cuarto afectado y presencia de grumos blancos en la leche. La respuesta al tratamiento antibiótico es muy pobre.

Pseudomonas aeruginosa

El origen de la contaminación de la glándula mamaria por esta bacteria está generalmente en las fuentes de agua, especialmente provenientes de estanques que se mantienen abiertos (sin tapas) y sin sanitizantes (ej. cloración). La bacteria llega a los pezones cuando se utiliza esta agua contaminada para el lavado de ubres antes de la ordeña. El agente también ha sido aislado de camas húmedas, equipos de ordeño

mal lavados, suelo, deposiciones, y en algunos productos para *dipping* y antibióticos contaminados. Cuando en un rebaño hay contaminación del agua por *Pseudomonas* es fácilmente detectable por la coloración verdosa característica de las mangueras de plástico de los equipos de ordeño, debido al pigmento producido por la bacteria. Los signos clínicos pueden variar desde una mastitis tóxica aguda muy severa hasta una mastitis crónica recurrente con una muy baja respuesta al tratamiento antibiótico. En la mayoría de los casos hay que eliminar la vaca afectada. La mejor prevención es mantener las vacas limpias y secas, buen drenaje de lugares húmedos y muy buena higiene durante la ordeña (Philpot y Nickerson, 2000).

Corynebacterium ulcerans

Es un agente muy poco frecuente de mastitis y es probable que este microorganismo sea transmitido a las vacas por los ordeñadores que padecen faringitis. Produce cuadros leves pero algunos muy severos de mastitis con pérdida del cuarto afectado. Las vacas infectadas pueden excretar este agente por la leche por meses o años y el consumo de esta leche puede causar cuadros de difteria en humanos ya que está estrechamente relacionado con el patógeno humano *Corynebacterium.diphtheriae* (producen la misma toxina). Poco se sabe sobre la epidemiología de este agente, más allá que es un habitante normal del suelo (Hogan et al., 1999).

Nocardia asteroides

Varias especies de *Nocardia*, pero especialmente *N.asteroides*, pueden causar una mastitis aguda o subaguda con cuartos muy duros (fibrosis) y granulomatosos con secreciones purulentas. Algunas infecciones terminan con fístulas que drenan hacia el exterior. Vacas con infecciones crónicas no responden al tratamiento antibiótico, pierden peso y bajan su producción. *Nocardia* está presente en el aire, suelo, pasto, camas, bebederos y en la piel de la ubre y puede sobrevivir varios días en los productos desinfectantes para *dipping*. No hay tratamiento efectivo para este tipo de infecciones. Al igual que las levaduras, las nocardias llegan al tejido mamario a través infusiones intramamarias con jeringas contaminadas. Para la prevención es recomendable tener buenas técnicas de infusión, adecuada sanitización de manos y punta de los pezones, uso de guantes y jeringas individuales desechables para los tratamientos antibióticos intramamario (Hogan et al., 1999).

Mycobacterium smegmatis

Varias especies de micobacterias saprófitas de crecimiento rápido presentes en el suelo, agua, y tracto intestinal de los animales, pueden infectar la glándula mamaria, entre ellas, *Mycobacterium smegmatis*.

Pueden penetrar a la ubre a través de cánulas contaminadas o por diseminación vía linfática o sanguínea desde tejidos infectados causando mastitis aguda, sin compromiso sistémico y no responden al tratamiento antibiótico. Es posible la transmisión vaca-vaca. *M.bovis* y *M.avium*

también pueden producir mastitis cuando existen infecciones localizadas en la glándula mamaria, especialmente en países con alta prevalencia de tuberculosis bovina. Estos cuadros se caracterizan por una marcada induración e hipertrofia de la glándula mamaria, especialmente en la parte superior de los cuartos posteriores.

Serratia marcescens

Entre las especies de *Serratia* que pueden causar mastitis, tanto en vacas lactantes como en vacas secas, *S.marcescens* es la más frecuente. Produce mastitis clínica con signos moderados y puede ser auto limitante. Estos microorganismos se encuentran en los purines, suelo y agua y contaminan con frecuencia las “dipineras” donde sobreviven muy bien en presencia de residuos de *dipping*, especialmente a base de clorhexidina. En presencia de un brote de mastitis por *Serratia marcencens*, la recomendación es revisar y lavar muy bien los receptáculos para *dipping* (Philpot y Nickerson, 2000).

Pasteurella/Mannheimia

La fuente primaria de estos microorganismos es el tracto respiratorio superior de mamíferos y aves. También se han asociado a cuadros de mastitis cuando se utiliza agua contaminada para pre-calentar pomos de antibióticos antes de una infusión intramamaria. Las mastitis por *Pasteurella* son bastante esporádicas y cuando ocurre un brote

producen un cuadro agudo y severo con secreción viscosa, amarillenta y mal oliente que no responden al tratamiento antibiótico.

Arcanobacterium pyogenes

Antiguamente denominado *Corynebacterium pyogenes* y después *Actinomyces pyogenes*, es un organismo comensal de las tonsilas y membranas mucosas del bovino y otras especies domésticas que ocasionalmente causa mastitis. Es un patógeno oportunista transmitido por moscas picadoras que producen heridas en la piel de los pezones. Se aísla de secreciones purulentas (heridas infectadas, abscesos, infecciones del tracto genital, lesiones de los pezones y glándula mamaria infectada). La transmisión es por contacto de los pezones con el ambiente contaminado. Este organismo generalmente produce una mastitis aguda purulenta, con severa destrucción del tejido mamario y disfunción glandular. Aunque los resultados de los antibiogramas indican que este agente es sensible a la mayoría de los antibióticos corrientes, especialmente penicilina, los resultados de las terapias *in vivo* son muy pobres. En Europa, junto a *Peptostreptococcus indolicus*, es el principal agente de las mastitis de verano en vacas secas y vaquillas, transmitida por la mosca de la cabeza (*Hydrotaea irritans*) (Sandholm et al., 1995). Una vez que un cuarto mamario está infectado, es mejor destruir el cuarto para limitar la transmisión o eliminar la vaca. El control de moscas también es importante para prevenir la diseminación del agente.

Hongos levaduriformes

Varias especies de diferentes Géneros de estos hongos (*Candida*, *Geotrichum*, *Trichosporon*, *Cryptococcus*, entre otros) son parte de la microflora de la piel de la glándula mamaria y son muy comunes en el medio ambiente, especialmente en el suelo, plantas, agua, material orgánico en descomposición y en lugares húmedos donde se almacenan materiales para las camas (paja) y alimentos concentrados (subproductos de remolacha). Puede ser un problema en rebaños donde se lavan pero no secan los pezones antes de la ordeña y cuando hay pezones fuertemente contaminados estos microorganismos pueden pasar a la leche del estanque. La principal forma de diseminación es mediante infusiones intramamarias sin las medidas apropiadas de asepsia o el uso de jeringas o pomos antibióticos contaminados. Clínicamente, en las mastitis por estos agentes, especialmente por *Candida*, el cuarto mamario está endurecido, aumentado de volumen y caliente, y el animal puede sufrir alzas de temperatura. En estos casos el tratamiento con antibióticos es completamente inefectivo y contraproducente; aunque la mayoría de los casos pueden recuperarse solos, la vaca sigue eliminando *Candida* por la leche por varios meses por lo que es recomendable segregar estos animales o eliminar la vaca infectada.

Mastitis por *Mycoplasma spp* y *Prototheca spp*

Estos dos patógenos merecen especial atención porque, aunque en algunos países constituyen serios problemas de salud mamaria, en Chile

no se aíslan con frecuencia y, por lo tanto, los Médicos Veterinarios no están familiarizados con sus cuadros clínicos y medidas de control como ocurre con los patógenos tradicionales. Actualmente en nuestro laboratorio, hemos estado investigando la presencia y frecuencia de estos patógenos en los rebaños del sur de Chile. Aunque epidemiológicamente son muy diferentes (*Mycoplasma*: contagioso y *Prototheca*: ambiental), ambos tienen en común el hecho de originar una alta tasa de cuadros clínicos muy severos que no responden al tratamiento antibiótico tradicional y dar resultados regularmente negativos a los exámenes bacteriológicos de rutina. Si bien es cierto estos agentes no se diagnostican con frecuencia en Chile, en otros países constituyen un serio problema en rebaños lecheros, por ej., *Mycoplasma* en EUA, donde es considerado un patógeno mayor (Britten, 2006), y *Prototheca* en Brasil, donde se aísla con bastante frecuencia (Costa et al., 1997; Ferrerira et al., 2006).

Mycoplasma

Son los microorganismos más simples que se conocen y con el genoma más pequeño de todos los organismos vivos (482 genes); carecen de pared celular y, por lo tanto, son muy pleomórficos y se adhieren directamente a las células del huésped para obtener sus nutrientes esenciales. Son organismos muy fastidiosos y lentos para crecer en los medios de cultivo (1 semana) y requieren medios complejos y enriquecidos por lo que no se aíslan en los medios de cultivos convencionales para diagnóstico de mastitis (González y

Wilson, 2003; Oliver et al., 2004). Son parásitos obligados de plantas y animales (no se multiplican en el medio ambiente), algunas especies son comensales y otras muy patógenas, generalmente huésped-específico. Las fuentes primarias son las ubres infectadas, el tracto respiratorio y el tracto genital de vacas sanas. Sin embargo, también es posible que se origine una infección intramamaria a través del uso de antibióticos y jeringas contaminadas, manos del ordeñador, por aerosoles en ambientes cerrados mal ventilados (estabulación), y por vía hematogena desde el tracto respiratorio y genital hacia la glándula mamaria. Pueden sobrevivir por largos períodos en ambientes húmedos y se han aislado de diferentes fuentes ambientales como leche de descarte, paños de ubre, paja, alimentos, purines, orina y agua de bebida (Hogan et al., 1999). Aunque hay varias especies capaces de producir mastitis (*M.alkalescens*, *M.arginini*, *M.bovigenitalium*, *M.bovirrhinis*, *M.californicum*, *M.canadense*, entre otras), la especie aislada con mayor frecuencia es *M.bovis* (González y Wilson, 2003; Oliver et al., 2004). Es importante tener presente que *Acholeplasma laidlawii*, un saprófito del ambiente y de la piel de los pezones morfológicamente muy parecido a *Mycoplasma*, se puede encontrar en la leche pero no se ha demostrado que cause mastitis. El diagnóstico bacteriológico de *Mycoplasma* necesariamente debe incluir pruebas para descartar la presencia de *Acholeplasma* (ej., prueba de la digitonina).

La mastitis por *Mycoplasma* se caracteriza por ser muy contagiosa y la infección se transmite rápidamente de vaca a vaca durante la ordeña a través del equipo de ordeño y las manos del ordeñador causando enormes pérdidas económicas por menor producción. Clínicamente, este

tipo de mastitis se caracteriza por ser aguda (aparición brusca) o crónica (puede persistir por más de una lactancia), con compromiso de más de un cuarto mamario al mismo tiempo; en los casos agudos la secreción de los cuartos mamarios afectados es de consistencia acuosa con presencia de grumos y aspecto de calostro, en cambio en los casos crónicos la secreción es purulenta-amarillenta con sedimento arenoso. Las vacas infectadas tienen elevado recuento de células somáticas y marcada reducción de la producción de leche. Las muestras de leche de los casos clínicos resultan negativas al cultivo y no responden al tratamiento antibiótico. *Mycoplasma* también puede producir metritis y cuando las descargas vaginales de estas vacas llegan a la ubre contaminan los pezones y transmiten la infección a los terneros a través del calostro, los cuales pueden cursar con artritis, otitis y neumonía. Los animales de todas las edades, en período de lactancia o seco, son susceptibles a la infección y en un rebaño sin problemas de mastitis pueden haber muchos animales portadores asintomáticos (González y Wilson, 2003).

El diagnóstico de la infección por *Mycoplasma* a nivel de rebaño se realiza mediante cultivo de muestras de leche de estanque o de vacas individuales con signos clínicos de mastitis. Las muestras de estanque son importantes para el monitoreo del problema pero hay que tener presente que la dilución de la muestra puede originar resultados falso-negativos, especialmente cuando las vacas infectadas excretan bajo número de bacterias. Las colonias de *Mycoplasma* en medios de cultivo apropiados tienen un aspecto característico con apariencia de “huevo frito”. Sin embargo, las colonias de *Acholeplasma* (saprófito) son indistinguibles de *Mycoplasma* y se requieren pruebas especiales para

diferenciarlas (digitonina) y pruebas moleculares (PCR) para la identificación de las especies de *Mycoplasma* (González, 2006).

Entre las medidas básicas de prevención y control de las mastitis por *Mycoplasma* están mantener un rebaño cerrado (cuando sea posible), hacer cultivo de los animales de reemplazo antes de ingresarlos al rebaño, extremar las medidas de higiene durante la ordeña para evitar la diseminación, segregar y ordeñar al final las vacas infectadas o con una unidad separada, usar un germicida eficaz para la desinfección de pezones antes y después de la ordeña, eliminar los animales infectados si no es posible la segregación, y monitorear regularmente el rebaño mediante cultivo de la leche del estanque. En Estados Unidos existe una vacuna aprobada por el USDA (*Mycomune*, Lab. Biomune), una bacterina que contiene 4 cepas patógenas de *M.bovis*, que ha demostrado ser eficaz para reducir considerablemente los signos clínicos de la enfermedad.

Mastitis por *Mycoplasma* en Chile

El primer aislamiento de *Mycoplasma* como agente de mastitis bovina en Chile se realizó en nuestro laboratorio el año 1997 (Sickles et al., 2000), oportunidad en que se examinaron muestras de leche de estanque de 71 rebaños lecheros de diferentes regiones del país (Valparaíso 1, Biobío 1, Araucanía 5, y Los Ríos y Los Lagos 64). *Mycoplasma bovis* fue aislado en 5 (7%) muestras, todas de la Región de Los Ríos. Posteriormente, Bustos y Muñoz (2011) reportaron la presencia de *Mycoplasma* spp en la Región del Biobío en muestras de

leche de estanque de 4 rebaños lecheros de 11 examinados (36,4%), pero en este estudio no se descartó la presencia de *Acholeplasma* ni se identificaron las especies aisladas. Más recientemente, nuestro grupo de trabajo realizó un muestreo por conveniencia para detectar la presencia de *Mycoplasma* en muestras de leche de estanque en 91 rebaños lecheros (Región de Los Ríos 66 y Región de Los Lagos 25), de los cuales sólo en 3 (3,3%) fue posible aislar colonias sospechosas de *Mycoplasma*, todos provenientes de la Región de Los Ríos. Uno de estos aislamientos se identificó como *M.bovis* mediante un PCR específico, y dos se identificaron como *M.bovigenitalium* mediante secuenciación parcial del gen 16S rRNA (Ulloa et al., 2013). Posteriormente, se analizaron 100 muestras de leche individual de vacas con > 500.000 células/mL de un rebaño lechero de la Región del Biobío con una alta incidencia de mastitis clínica y resultados bacteriológicos negativos a los patógenos mamarios tradicionales. Sólo en dos muestras fue posible aislar colonias sospechosas de *Mycoplasma* las cuales fueron identificadas mediante secuenciación parcial del gen 16S rRNA como *M.alkalescens* (Ulloa et al., 2013). En consecuencia, en Chile se ha reportado hasta ahora la presencia de 3 especies diferentes de *Mycoplasma* en muestras de leche bovina: *M.bovis*, *M.bovigenitalium* y *M.alkalescens*.

Prototheca

Estos microorganismos ambientales son algas unicelulares que no poseen clorofila y se encuentran ampliamente distribuidas en el medio ambiente. Las formas patógenas de esta alga son los esporangios y

esporangiosporas que son liberadas en gran cantidad tras la ruptura de las envolturas que la rodean, denominadas “tecas”. Algunas especies pueden ocasionalmente producir infecciones cutáneas en el hombre, y en los animales se han descrito algunas infecciones sistémicas en perros y gatos y numerosos cuadros de mastitis en bovinos. Se reconocen 5 especies de *Prototheca* de las cuales 3 son consideradas patógenas: *P.wickerhamii* (infecciones en humanos), y *P.zopfii* y *P.blaschkeae* aisladas de mastitis bovina, siendo *P.zopfii* la especie más frecuente (Jensen et al., 1998; Roesler et al., 2003; Roesler et al., 2006).

Esta algas están presentes en las plantas, suelo, barro, charcos de agua estancadas, arroyos, agua de bebida de los animales, materia fecal de bovinos y porcinos, pisos de las salas de ordeño y patios de estabulación (Hogan et al., 1999; Ferreira et al., 2006). Las malas prácticas de higiene antes de la ordeña o durante los tratamientos intramamarios son los principales factores que favorecen el acceso del alga a la glándula mamaria por vía ascendente. Aunque este es un agente netamente ambiental, la infección también se puede transmitir de vaca a vaca durante la ordeña. Se ha sugerido que *Prototheca* se podría reproducir en el aparato gastrointestinal del bovino y de este modo eliminarse al medio ambiente por las heces (Costa et al., 1997). La infección también se puede adquirir durante el período seco.

Clínicamente, *Prototheca* puede causar mastitis clínica y subclínica, pero lo más frecuente es una mastitis clínica de carácter crónico. En los casos agudos los cuartos mamarios pueden estar aumentados de volumen, endurecidos, y con una secreción acuosa con presencia de gruesos grumos. Experimentalmente se ha observado que los neutrófilos

no participan en la patogénesis de esta infección razón por la cual en los animales afectados no se observa un aumento de los recuentos celulares en la leche, aspecto que lo diferencia de las infecciones por *Mycoplasma*. Sin embargo, una característica distintiva de las mastitis por *Prototheca*, que se asemeja a las infecciones por *Mycoplasma*, es que los animales infectados son completamente refractarios a los tratamientos con antibióticos tradicionales. Algunos ensayos realizados *in vitro* han demostrado que algunos antimicóticos como anfotericina B y nistatina son efectivos contra este agente pero son de alto costo; la medida más práctica y efectiva para controlar esta infección es eliminar los animales infectados para evitar la propagación de la infección al resto de los animales.

El diagnóstico de la infección se basa en el aislamiento del agente a partir de muestras de leche con mastitis clínica o subclínica, teniendo presente que en los casos crónicos el agente se elimina en forma intermitente por la leche, por lo que es posible que los cultivos resulten negativos al cultivo. En agarsangre ovino, el medio de cultivo universal para el diagnóstico de mastitis, *Prototheca* desarrolla colonias cremosas blanco-grisáceas que se pueden confundir fácilmente con estafilococos coagulasa-negativo o levaduras (Oliver et al., 2004). Por tanto para el aislamiento de *Prototheca* es importante usar medios selectivos que no están comercialmente disponibles y hay que prepararlos en el laboratorio. La identificación presuntiva se basa en las características morfológicas de las colonias y la morfología típica de los esporangios con esporangiosporas que se pueden observar en frotis teñidos con azul de metileno o lactofenol (Hogan et al., 1999). La identificación a nivel

de especie se puede lograr mediante pruebas bioquímicas a través de un auxograma (batería de asimilación de carbohidratos) (Zaror et al., 2011), o mediante el sistema rápido API 20C AUX (Biomérieux). Para la identificación y genotipificación molecular de las cepas se puede utilizar la técnica PCR-RFLP amplificando el gen específico 18S rDNA y visualizando los productos mediante electroforesis en gel de agarosa (Roesler et al., 2006).

Mastitis por *Prototheca* en Chile

El primer aislamiento de *Prototheca zopfii* en Chile a partir de muestras de leche de vacas con mastitis fue publicado recientemente por Zaror et al. (2011), quienes el año 2008 utilizando medios especiales para *Prototheca* cultivaron 200 muestras de leche de vacas con mastitis clínica que resultaron previamente negativas al cultivo tradicional, logrando aislar *P.zopfii* en 2 (1%) muestras. Sin embargo, ambas muestras correspondían a un mismo animal muestreado en dos ocasiones consecutivas con intervalo de 2 meses, proveniente de la zona central del país. Posteriormente, Kruze y Mella (2010), describieron el primer brote de mastitis clínica por *Prototheca zopfii* en un rebaño lechero de alta producción de la zona central del país compuesto de 967 vacas Holstein Friesian con tres ordeñas diarias y una alta incidencia de mastitis clínica en los últimos 12 meses (120 casos diarios) refractarias al tratamiento. El promedio de células somáticas en este período era 293.000 células/mL y los resultados de los exámenes bacteriológicos de rutina realizados por varios laboratorios revelaron ausencia de patógenos contagiosos

(*Staph.aureus* y *Strep.agalactiae*) y ambientales (*Strep.uberis* y *E. coli*), y una gran proporción de cultivos negativos. La palpación de glándula mamaria de los animales clínicamente afectados reveló marcada fibrosis mamaria en la mayoría de los casos y secreción acuosa con abundante presencia de grumos, características compatibles con la de un brote de mastitis por *Prototheca*. El examen bacteriológico de muestras de leche de 58 vacas afectadas clínicamente de este rebaño demostró la presencia de *P.zopfii* en cultivo puro en 27 (46,6%) de las muestras analizadas (Kruze y Mella, 2010).

Con estos antecedentes en mente, y considerando que ambas descripciones anteriores correspondían a rebaños de la zona central del país, nuestro grupo de trabajo se propuso investigar cuál era la prevalencia de *Prototheca* en la zona sur de país (más húmeda que la zona central), no sólo en leche sino también en el medio ambiente, que en el sur de Chile es muy propicio para la sobrevivencia y proliferación de esta alga. Con este propósito se visitaron diferentes rebaños lecheros de las regiones del Biobío, Los Ríos y Los Lagos y se tomaron y analizaron en total 418 muestras de leche y del medio ambiente de diferentes orígenes: purines (127), material fecal de vacas (92), agua de bebederos de los animales (32), leche de vacas con mastitis clínica (6), leche de tarros de pequeños productores (95) y leche de estanque (66) (Montealegre, 2012; Mella et al., 2013). El 4,0% (17) de las muestras analizadas resultaron positivas a *Prototheca*, de las cuales 14 (82,4%) fueron identificadas como *P.zopfii* y 3 (17,6%) como *P.blaschkeae*. *P.zopfii* fue aislada de los 6 casos de mastitis clínica de vacas provenientes de un rebaño con antecedentes de infección por *Prototheca*,

de 1 muestra de estanque y de 7 muestras fecales; *P.blaschkeae* se aisló de 1 muestra de agua de bebederos y de 2 muestras de purines. Además, en esta oportunidad la identificación de las especies se complementó con genotipificación molecular de las especies aisladas mediante PCRRFLP (Tabla 1).

Tabla 1. Aislamiento, identificación y genotipificación de *Prototheca* spp en rebaños lecheros del sur de Chile

Origen de la muestra	n	Aislamiento de <i>Prototheca</i>	Especie y genotipo
Leche de estanque	66	1	<i>P.zopfii</i> genotipo 2
Leche de tarros	95	0	
Leche de mastitis	6	6	<i>P.zopfii</i> genotipo 2
Purines	127	2	<i>P.blaschkeae</i>
Heces de bovino	92	7	<i>P.zopfii</i> genotipo 1
Agua de bebederos	32	1	<i>P.blaschkeae</i>
Total	418	17 (4,0%)	

Estos resultados confirman que sólo *P.zopfii* y *P.blaschkeae* son capaces de producir mastitis en bovinos siendo *P.zopfii* genotipo 2 la especie más frecuente (Roesler et al., 2006; Aouay et al., 2008). Finalmente es posible concluir que el alga está presente en nuestros rebaños lecheros del sur de Chile y es probable que muchos cuadros clínicos refractarios al tratamiento y con resultados bacteriológicos negativos se deban a este patógeno ambiental.

Referencias

- Aouay A, Coppée F, Cloet S, Cuvelier P, Belayew A, Lagneau P-E, Mullender C. 2008. Molecular characterization of *Prototheca* strains isolated from bovine mastitis. *J. Mycol. Med.* 18, 224-227.
- Blowey R, Edmonson P. 2010. Mastitis control in dairy herds. Second edition, CAB International, Wallingford, UK, 266 p.
- Bustos K, Muñoz M. 2011. Prevalence of *Mycoplasma* spp in bulk tank milk samples from dairy farms of the Biobío Region of Chile. *Proc. NMC Ann Mtg, USA.* p.151-152.
- Britten A. 2006. Getting the jump on *Mycoplasma* outbreaks. *Proc NMC Ann Mtg, USA.* p. 212-216.
- Costa E, Melville P, Ribeiro A, Watanabe E. 1997. Epidemiologic study of environmental sources in a *Prototheca zopfii* outbreak of bovine mastitis. *Mycopathol.* 137, 33-36.
- Céspedes W. 2014. Diagnóstico de patógenos mamarios en lecherías de la zona central de Chile. *Dleche (Chile)* 76, 54-55.
- Dosogne H, Vangroenweghe F, Burvenich Ch. 2002. Potential mechanism of action of J5 vaccine in protection against severe bovine coliform mastitis. *Vet. Res.* 33, 1-12.
- Ferreira V, Mesquita A, Carvalho F. 2006. *Prototheca zopfii* importante patógeno en la etiología de mastitis bovina en Brasil. *Depto Med Vet Prev, Universidad Federal de Goiás, Brasil.*
- González RN. 2006. Diagnosing *Mycoplasma* mastitis. *Proc NMC Ann Mtg, USA.* p. 207-2011.
- González RN, Wilson DJ. 2003. Mycoplasmal mastitis in dairy herds. *Vet Clin Food Anim* 19, 199-221.
- Hogan JS, Smith KL, Todhunter DA, Schoenberger PS. 1992. Field trial to determine efficacy of an *Escherichia coli* J5 vaccine. *J. Dairy Sci.* 75, 78-84.

- Hogan JS, González RN, Harmon RJ, Nickerson SC, Oliver SP, Pankey JW, Smith KL. 1995. Laboratory Handbook on Bovine Mastitis. National Mastitis Council, Verona, WI, USA. 222 p.
- Jensen HE, Aalbæk B, Bloch B, Huda A. 1998. Bovine mammary protothecosis due to *Prototheca zopfii*. Med. Mycol. 36, 89-95.
- Kruze J, Mella A. 2010. First bovine clinical mastitis outbreak in a large dairy herd in Chile caused by the environmental algae *Prototheca zopfii*. Proc XXVI World Buiatrics Congress, Santiago, Chile. p. 100.
- Kruze J, Mella A, Monti G, Zambrano A. 2013. Asociación entre niveles de células somáticas en leche de estanque y la incidencia de mastitis clínica en rebaños lecheros del sur de Chile (X Región). Consorcio Tecnológico de la Leche, Proyecto M3P4. Informes Finales Proyectos FIA, vol II. p. 273-291.
- Mella A, Montealegre J, Ulloa F, Jara R, Kruze J. 2013. Genotipificación de cepas de *Prototheca* spp aisladas de muestras de leche y medio ambiente en rebaños lecheros del sur de Chile. Proc X Congreso Chileno Buiatría, Osorno, Chile. p 157-158.
- Montealegre J. 2012. Determinación e identificación del alga *Prototheca* spp a partir de muestras de agua, purines, leche de estanque, tarros y casos clínicos de vacas con mastitis en predios lecheros del centro y sur de Chile. Tesis, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Oliver SP, González RN, Hogan JS, Jayarao BM, Owens WE. 2004. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality. Fourth edition. National Mastitis Council, Verona, WI, USA.
- Philpot WN, Nickerson SC. 2000. Wining the fight against mastitis. Westfalia-Surge, Inc., Naperville, IL. USA.
- Sandholm M, Honkanen-Busalski T, Kaartinen L, Pyörälä S. (editors). 1995. The bovine udder and mastitis. University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, Helsinki, Finland.
- Roesler U, Scholz H, Hensel A. 2003. Emended phenotypic characterization of *P.zopfii*: a proposal for three biotypes and

- standards for their identification. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53, 1195-1199.
- Roesler U, Muller A, Hensel A, Baumann D, Truyen U. 2016. Diversity within the current algal species *Prototheca zopfii*: a proposal for two *Prototheca zopfii* genotypes and description of a novel species, *Prototheca blaschkeae* sp nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 56, 1419-1425.
- Sickles SA, Kruze J, González RN. 2000. Detection of *Mycoplasma bovis* in bulk tank milk samples from herds in southern Chile. *Arch. Med. Vet.* 32, 229-234.
- Taponen S. 2008. Bovine mastitis caused by coagulase-negative Staphylococci. Academic Dissertation, Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki, Finland.
- Ulloa F, Mella A, Soto JP, Kruze J. 2013. Mastitis por *Mycoplasma* en rebaños lecheros chilenos. Proc XI Congreso Chileno de Buiatría, Osorno, Chile. p. 13-14.
- USDA-APHIS. 2008. Prevalence of contagious mastitis pathogens on U.S. dairy operations, 2007. Info Sheet, Veterinary Services, Animal and Plant Health Inspection Service, United States Department of Agriculture, USA.
- Zaror L, Valenzuela K, Kruze J. 2011. Mastitis bovina por *Prototheca zopfii*: primer aislamiento en Chile. *Arch. Med. Vet.* 43, 173-176.

Marcadores bioquímicos sanguíneos en el diagnóstico y control de trastornos metabólicos en vacas lecheras²

Fernando G. Wittwer M.
Universidad Austral de Chile

Enfermedades de la producción y estrés metabólico en vacas

La intensificación de los sistemas productivos junto a la selección genética de los animales ha incrementado la producción animal. Paralelamente, se han impuesto mayores exigencias metabólicas a los animales predisponiéndolos a desarrollar las *enfermedades de la producción*. Éstas se producen debido a un desequilibrio entre los ingresos, circulación y egresos de uno o más metabolitos en el organismo, alejando sus concentraciones de los límites fisiológicos. En estas circunstancias se desarrollan alteraciones bioquímicas y fisiológicas que inicialmente condicionan mermas productivas y de fertilidad en el rebaño que culminan en trastornos clínicos e incluso la muerte de animales. Para prevenirlas es fundamental mantener el equilibrio entre la cantidad de un nutriente que ingresa, es absorbido, circula en la sangre, es depositado en los compartimientos u órganos de reserva y egresa por conceptos de mantención y producción.

² Wittwer, F. 2015. Marcadores bioquímicos sanguíneos en el diagnóstico y control de trastornos metabólicos en vacas lecheras. II Simpósio Nacional da Vaca Leiteira. Anais. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 34-62.

Los trastornos metabólicos en los rumiantes son en su mayoría relacionados con desequilibrios nutricionales, incluidos las carencias nutricionales simples producto de mezcla incompleta de la dieta o un manejo alimentario inadecuados, o bien por problemas más complejos asociados a las interacciones entre la nutrición, el ambiente y el manejo (Cuadro 1). Su presentación es más frecuente en animales manejados en condiciones de pastoreo, debido a la elevada variación en la disposición y contenido de nutrientes de los pastos utilizados como forrajes, asociado a características de suelo, composición botánica y estado de desarrollo de los pastos y sus cambios estacionales y diarios. Los desequilibrios nutricionales afectan a un grupo de animales en un rebaño, generalmente los metabólicamente más susceptibles, que corresponden a los mayormente exigidos desde el punto de vista productivo, vale decir vacas en el período de transición, ovejas al final de gestación, animales en crecimiento, los que comúnmente cursan inicialmente con una alteración en su salud de tipo subclínica o inaparente. Es en esta condición que se requiere de un método de diagnóstico o evaluación de balance metabólico oportuno, antes que la producción de los animales se vea afectada.

Cuadro 1. Alteraciones metabólicas en vacas

Carencia o disfunción	Alteraciones metabólicas
Carencia de energía	Balance energético negativo (BEN), cetosis o acetonemia tipo 1 y 2, hígado graso
Desbalance de proteínas	Desnutrición proteica, asincronía ruminal, energía disponible en el rumen (RDP/E°)
Disfunción ruminal	Acidosis ruminal sub aguda (SARA), acidosis láctica, desvío a la izquierda del abomaso
Disfunción mineral	Hipocalcemia, paresia puerperal, tetania hipomagnésica
Carencia mineral	Mg, P, Na, Se, Cu, Zn, Fe, Co, I

El período de transición de la vaca lechera (3 semanas preparto a 3 semanas posparto) constituye el de mayor exigencia para mantener su homeostasia, producto de los cambios fisiológicos, nutricionales, metabólicos e inmunes que se presentan en las 6 semanas alrededor del parto. A ello hay que asociar los cambios de manejo (reagrupamiento, ambientes diferentes) y alimentación (dietas preparto, lactancia) propios del fin de la gestación, parto e inicio de la lactancia. En esta situación, la capacidad homeorrética (cambios coordinados en el metabolismo para adaptarse a un nuevo estado fisiológico) se ve sobrepasada produciéndose en la vaca el *estrés metabólico*, definido como la “incapacidad de adaptación fisiológica al rápido crecimiento fetal, parto y alta demanda de energía para lactancia, con consecuente alteración en la utilización de nutrientes esenciales, favoreciendo la presentación de trastornos metabólicos, procesos inflamatorios y el estrés oxidativo (Figura 1).

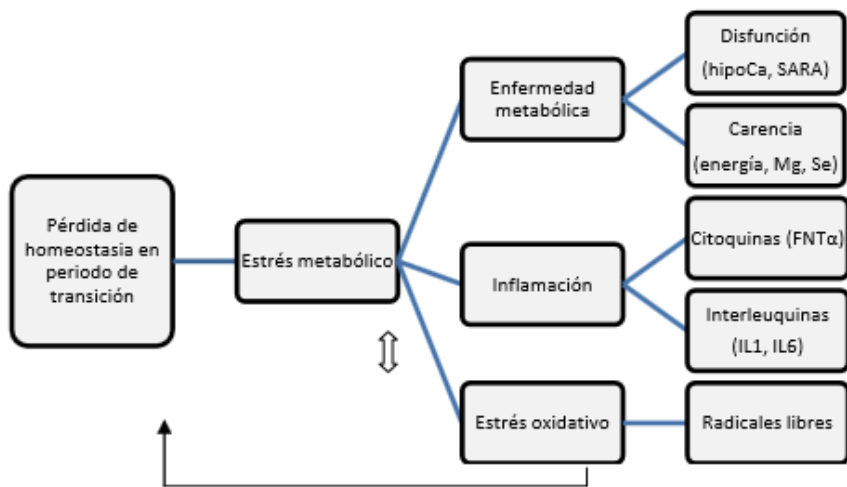


Figura 1. Causa y consecuencias del estrés metabólico de vacas en transición (Adaptado de Sordillo y Mavangira, 2014)

El estrés metabólico genera significativas pérdidas económicas en la industria ganadera, limitando la productividad de las vacas y originando enfermedades. Al respecto, se describe que el 30 al 50% de las vacas cursan con una enfermedad durante el período de transición (Figura 2), constituyendo con ello preocupación, no solo productiva, sino también asociada al bienestar animal. De allí que la determinación de la concentración de analitos cuyas concentraciones son influidas por el estatus metabólico de los nutrientes en el organismo, se realiza frecuentemente en muestras de sangre, leche y orina de vacas lecheras. Su determinación permite evaluar la condición o balance metabólico nutricional de los animales e identificar tempranamente los trastornos metabólicos que afectan de forma clínica o subclínica los rebaños.

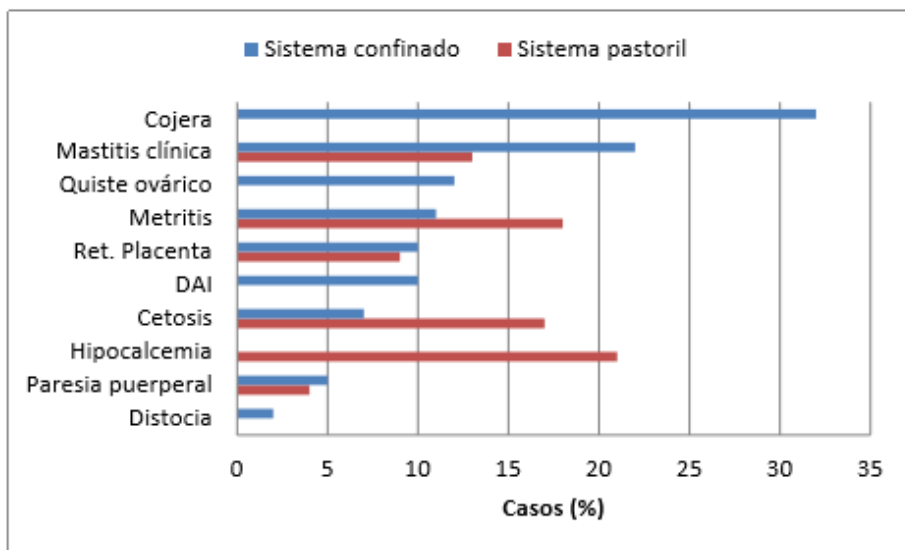


Figura 2. Enfermedades asociadas al estrés metabólico de vacas lecheras en sistema confinado de Estados Unidos y Europa (Sordillo y Mavangira, 2014) y sistema pastoril de Chile (Sepúlveda-Varas et al . 2015)

Perfil metabólico

Los análisis bioquímicos clínicos para individuos se han utilizado rutinariamente en las prácticas veterinarias, es así que exámenes de campo o al lado de la vaca, como las pruebas rápidas para la cetosis, hipocalcemia puerperal, pH ruminal, inmunoglobulinas en terneros, constituyen un apoyo del laboratorio al diagnóstico de enfermedades metabólicas y alteraciones de salud de los animales. Sin embargo, hoy en día la medicina individual en animales de producción tiene un uso limitado, mientras que los procedimientos de diagnóstico de rebaño constituyen una herramienta útil para monitorear, diagnosticar y controlar enfermedades que afectan a grupos de individuos.

Los marcadores bioquímicos corresponden a analitos que pueden ser cuantificados en muestras de tejidos como sangre o fluidos corporales como leche u orina de un animal o en un grupo en el rebaño, y que definen el grado de equilibrio metabólico logrado mediante la “homeorresis”, que corresponde al mecanismo que regula y coordina los cambios en los procesos metabólicos de tejidos del animal que son requeridos para sostener una condición o carga fisiológica, como sucede en el período de transición, especialmente al inicio de la producción láctea. Basado en este concepto y en la idea de que “lo que no es medido difícilmente puede ser corregido”, en los años 1970 se comenzaron a utilizar en Europa los perfiles metabólicos (PM), técnica que se ha ido adaptado a diferentes sistemas y especies productivas, incorporando nuevos marcadores o formas de aproximación, acorde con las realidades locales y los avances científicos y tecnológicos.

Un PM es definido como un conjunto de análisis bioquímicos realizados en un momento definido con el propósito de monitorear la salud metabólica del rebaño y contribuir a establecer las alteraciones metabólicas y enfermedades que afectan la producción. Es un examen complementario utilizado en la evaluación y diagnóstico de las *enfermedades de la producción* que se analiza, en uno o más grupos de animales representativos del rebaño, en los que se determinan biomarcadores indicadores del balance metabólico nutricional y del estrés metabólico. Los resultados obtenidos se comparan con intervalos de referencia poblacionales (IR) o umbrales críticos (*cut-off*), indicando así el grado de adecuación de las principales vías metabólicas relacionadas con energía, proteína y minerales, la funcionalidad de

órganos vitales para la producción, como el hígado, o el grado de salud o bienestar de los animales. Su mayor utilidad se ha centrado en el estudio de los desbalances metabólicos nutricionales que se presentan en las vacas lecheras durante el período de transición e inicio de la lactancia. Su empleo se ha promovido bajo dos sistemas: (a) Evaluación a nivel de individuos como indicador para *estimar el riesgo* de presentación de trastornos metabólicos e inflamatorios en las vacas en transición y (b) A nivel de rebaño para hacer una *prospección de los desbalances metabólicos* asociados a una inadecuada alimentación o manejo en lotes de vacas agrupadas acorde a su condición fisiológica, productiva o sanitaria.

Evaluación de riesgo

Este sistema emplea la determinación de biomarcadores o analitos muy definidos durante el período de transición de vacas lecheras con el propósito de establecer el riesgo que individuos de un rebaño cursen posteriormente con enfermedades específicas. Los primeros trabajos en esta línea fueron realizados por Sommer en Alemania, quien describió la metafilaxis como parte de la medicina preventiva de rebaños al demostrar que un diagnóstico temprano basado en las determinaciones séricas de colesterol y aspartato trasaminasa (AST) en vacas preparto, permite identificar vacas en riesgo, las que al ser tratadas preventivamente, disminuye en ellas la presentación de enfermedades en el posparto (Cuadro 2). Bajo este enfoque, se determina en algunos animales la concentración sanguínea de un analito en un período

definido y sus resultados se comparan con un umbral crítico predefinido. Las vacas con resultados sobre o bajo los puntos de corte definen el mayor riesgo que cursen posteriormente con una patología definida. Considerando que la mayor presentación de trastornos metabólicos, como cetosis y desvío del abomaso e inflamatorios como mastitis y metritis es al final del período de transición e inicio de la lactancia, la estrategia de muestreo se concentra previo a su presentación; por ello, la mayor carga de muestras se ubica en el parto o inmediatamente después del parto.

Cuadro 2. Efecto de una metafilaxis basada en la determinación de colesterol y AST séricos (hipocolesterolemia o AST aumentado) en la presentación de enfermedades en el posparto de vacas (adaptado de Sommer, 1975)

Trastorno	Tratadas (n=202)	Control (n=283)
Retención de placenta	5%	9%
Enfermedad metabólica	2%	12%
Endometritis	8%	25%
Disfunción ovárica	11%	19%
Mastitis	1%	8%

Esta técnica se ha empleado mayormente para definir las vacas que cursan con balance energético negativo (BEN) y su mayor riesgo de enfermar en el posparto; con dicho propósito se utiliza la determinación de ácidos grasos no esterificados (NEFA) y β -OH-butirato (BHB) en sangre. De igual manera, se han utilizado las determinaciones de colesterol sérico preparto y posparto y de calcio sérico. Todas ellas se asocian con incremento en las presentaciones de metritis y otras enfermedades del posparto (Cuadro 3). En esta línea destacan los

trabajos realizados por Ospina en Cornell (USA) valorando BEN, a nivel de individuos, en base al aumento de las concentraciones séricas de NEFA pre y posparto y BHB posparto y su relación con la presentación de enfermedades en el posparto (cetosis subclínica y clínica, desvío de abomaso, retención de placenta y metritis) (Cuadro 4). Se ha señalado que vacas con concentraciones de NEFA preparto de $>0,3$ mmol/L y posparto $>0,7$ mmol/L o de BHB posparto $>1,0$ mmol/L tienen una menor probabilidad de preñez y su producción de leche se verá disminuida.

Cuadro 3. Asociaciones entre concentraciones séricas de ácidos grasos libres (NEFA), β -hidroxibutirato (BHB) y calcio (Ca), de vacas en transición, con el riesgo de presentación de enfermedades al posparto

Analito	Punto de corte (mmol/L)	Días en relación al parto	Enfermedad	Riesgo	Referencia
NEFA	1,1	-21 a -3	K+DA+RP+M	2,1	Van Saun (2006)
NEFA	0,5	3 a 21	K+DA+RP+M	4,2	Van Saun (2006)
NEFA	0,3	-14 a -3	K+DA+RP+M	1,6	Ospina et al. (2013)
NEFA	0,6	3 a 14	K+DA+RP+M	1,9	Ospina et al. (2013)
BHB	1,0	3 a 14	K+DA+RP+M	3,1	Ospina et al. (2013)
BHB	1,2	1 a 7	DA	8,0	LeBlanc et al. (2005)
BHB	1,2	1 a 7	M	3,3	Duffield et al. (2009)
BHB	1,0	3 a 14	K	2,8	Ospina et al. (2010)
Ca	2,0	21 a 21	K+DA+RP+M	4,0	Van Saun (2006)

K= cetosis; DA= desvío de abomaso; RP= retención de placenta; M= metritis

Cuadro 4. Concentraciones séricas pre y posparto de ácidos grasos libres (NEFA) y β-hidroxibutirato (BHB) como predictores de riesgo de enfermedades en el período de transición en vacas lecheras (adaptado de Ospina et al., 2010)

Enfermedad	NEFA (mmol/L)			
	Preparto (-14 a -2 días)		Posparto (3 a 14 días)	
	Punto de corte	Riesgo	Punto de corte	Riesgo
Desvío de abomaso	0,3	2,0	0,7	9,7
Cetosis	0,3	1,8	0,6	5,0
Retención de placenta y metritis	0,4	2,2	-	-
Metritis	-	-	0,4	17,0
Otras	0,3	1,8	0,6	4,4
Enfermedad	BHB (mmol/L)			
			Posparto (3 a 21 días)	
Desvío de abomaso	-	-	1,0	6,9
Cetosis	-	-	1,0	4,9
Metritis	-	-	0,7	2,3
Otras	-	-	1,0	4,4

Los últimos trabajos en esta línea buscan proyectar los resultados de individuos a la salud del rebaño, definiendo la asociación entre el porcentaje de vacas que en el período de transición presentan valores alterados de un analito, con trastornos en la salud, producción o fertilidad en el período de lactancia posterior. De esta forma constituye una alarma de futuras pérdidas esperables de mantenerse dicha condición (Cuadro 5).

El número de animales a muestrear varía acorde el intervalo de confianza y error diagnóstico aceptado, la precisión y exactitud de la técnica analítica usada, la prevalencia esperada y el número de animales en riesgo. Así para NEFA y BHB en un rebaño de 1.000 vacas con 3 a 4 partos diarios, que tendría aproximadamente 35 vacas en riesgo, se deberían muestrear 14 vacas (con IC de 75% y error de ±10%). Actualmente se aconseja usar esta técnica determinando BHB cada 2 semanas en 20 vacas de 3 a 14 días posparto (ejemplo de rebaño de

1.000 vacas) y en caso de haber 15% a 40 % de positivas (BHB \geq 1,2 mmol/L), controlar todas las vacas en riesgo dos veces a la semana y tratar las positivas con propilenoglicol. Si la prevalencia es $>$ 40% se deben tratar todas las vacas en riesgo desde el día 3 de lactancia por 5 días y continuar el monitoreo bisemanal.

Cuadro 5. Asociación entre el porcentaje de vacas lecheras en transición con concentraciones séricas aumentadas de NEFA y BHB con alteraciones productivas y de fertilidad posterior (Datos de Ospina et al., 2013* y Chapinal et al., 2012)**

Porcentaje vacas sobre punto de corte	Analito (mmol/L)	Días de muestreo referido al parto	Alteración	Magnitud
$\geq 15^*$	NEFA $\geq 0,3$	-3 a -14	Cetosis o DA	3,6 veces
$\geq 15^*$	NEFA $\geq 0,3$	-3 a -14	Producción de leche 305 días	-282 kg/vaca/rebaño
$\geq 15^*$	NEFA $\geq 0,6$	+3 a +14	Producción de leche 305 días	-288 kg/vaca/rebaño
$\geq 15^*$	BHB $\geq 1,2$	+3 a +14	Producción de leche 305 días	-534 kg/vaca/rebaño
$\geq 15^*$	NEFA $\geq 0,3$	-3 a -14	% preñez 70 días	-1,2 veces
$\geq 15^*$	NEFA $\geq 0,7$	+3 a +14	% preñez 70 días	-0,9 veces
$\geq 30^{**}$	NEFA $\geq 0,5$	-1 a -7	Producción de leche 1 ^{er} control	-3 kg/d/vaca
$\geq 15^{**}$	BHB $\geq 0,8$	-1 a -7	Producción de leche 1 ^{er} control	-4,4 kg/d/vaca
$\geq 30^{**}$	NEFA $\geq 1,0$	+1 a +7	Preñez 1 ^o servicio	0,6 (riesgo)

Investigadores italianos (Bertoni et al., 2013) enfatizan la importancia de centrar el uso de los marcadores sanguíneos al período de transición. Para ello describen la utilidad de evaluar los procesos inflamatorios que se presentan alrededor del parto mediante índices compuestos basados en varios marcadores que denominan “Índice de funcionalidad hepática (LFI)”. Este índice se obtiene de establecer los

cambios en las concentraciones séricas de albumina, colesterol y bilirrubina entre los días 3 a 28 posparto, para luego compararlo con un estándar definido, obteniendo con ello una herramienta que permite medir la magnitud de la inflamación en el periparto y su efecto en la producción, fertilidad y salud posterior de la vaca.

Prospección diagnóstica

Constituye el enfoque tradicional de los PM descrito por Payne en los 1970 en el Reino Unido, siendo a la fecha la forma más utilizada en la evaluación de la condición metabólica de los rebaños lecheros en Chile. En este examen se determinan varios analitos en muestras de sangre obtenidas de uno o más grupos de vacas seleccionadas del rebaño y cuyos resultados se comparan con sus respectivos intervalos de referencia (IR). Se emplea como examen de aproximación diagnóstica para evaluar el balance metabólico-nutricional e identificar los potenciales factores responsables por la presentación de enfermedades. Este enfoque permite mayor flexibilidad para los períodos de muestreo, siendo su limitante el costo de los análisis, situación superada en la actualidad con el empleo de equipos de química clínica automatizados para análisis de multi-analitos en corto tiempo en lotes de muestras y con bajo consumo de reactivos y costo. El PM evalúa el balance o equilibrio metabólico, así como los cambios que se producen durante el período de transición en la vaca, o de otros períodos críticos en grupos de animales. La prueba tiene un enfoque amplio que incluye analitos que reflejan el balance de energía (NEFA y BHB, colesterol), proteínas (urea y

albúmina) y macro y micro minerales (Ca, P, Mg, Na, Cu, Zn, Se). El panel de análisis es flexible pudiendo reducirse o ampliarse según las circunstancias. Habitualmente se incluyen analitos para evaluar la condición de salud hepática (AST, GDH, GGT) y actualmente se está avanzando en incluir analitos asociados a inflamación y bienestar animal (haptoglobina, globulinas).

La realización de un PM en un rebaño involucra cinco pasos: (a) definir el objetivo que motiva realizar el examen; (b) definir los exámenes a solicitar, el o los grupos a ser muestreados y obtener las muestras de los animales seleccionados; (c) ejecutar los análisis requeridos; (d) obtener los resultados individuales y del grupo y comparar con IR y (e) interpretar los resultados.

a) Objetivo

El perfil metabólico fue diseñado con el propósito de monitorear la salud metabólica del rebaño, identificar vacas metabólicamente superiores y contribuir a determinar las alteraciones metabólicas y, en general, las enfermedades que afectan la producción. Actualmente se considera que su objetivo es “obtener lo antes posible la opinión de un grupo de animales sobre su condición metabólica nutricional y sanitaria”. Basado en este concepto teórico general, un PM está indicado cuando se pretende: (i) Evaluar y controlar el balance metabólico de un grupo de animales acorde a sus ingresos (nutrición), circulación (capacidad de movilización y regulación interna) y egresos (producción); (ii) Diagnosticar la presencia de trastornos metabólicos en un rebaño;

(iii) Establecer la presencia o ausencia de un factor asociado a la presentación de enfermedades en el rebaño y (iv) Servir de instrumento de evaluación metabólica en grupos de animales.

El PM no es un examen de evaluación de una dieta, sino como su nombre lo indica, de evaluación del estado metabólico de un grupo de animales de un rebaño en respuesta a su dieta. Se debe considerar que su correcta aplicación está determinada por la adecuada selección de los animales muestreados y que es esencial integrar los resultados del PM con la información obtenida a partir del análisis de los registros prediales. Bajo estas condiciones, es factible evaluar el estado nutricional del rebaño, detectar en forma temprana alteraciones en su salud, identificar riesgos potenciales para la presentación de enfermedades y analizar sus posibles causas orientando al médico veterinario en sus decisiones. Considerando que el PM ha sido más utilizado en rebaños lecheros bovinos, los antecedentes entregados a continuación hacen referencia mayormente a este tipo de animales:

- Control del balance metabólico nutricional sanitario del rebaño
- Sospecha de la presencia de trastorno metabólico de energía/proteínas en un grupo de animales
- Diagnóstico o evaluación de carencias minerales
- Estudio de problemas de fertilidad, volumen o calidad de la producción de leche, ganancia de peso en animales de carne
- Evaluación de respuesta a intervenciones nutricionales.

b) Muestra

La muestra debe ser obtenida de grupos e individuos “representativos” de la población de animales del rebaño. Es fundamental agrupar a los individuos en base a los factores fisiológicos que afectan la concentración de los analitos a ser medidos, minimizando al máximo las causas de variación de origen no nutricional. La selección de los animales acorde con su etapa productiva permite observar tendencias, al asociar las concentraciones de los componentes sanguíneos con la producción y comparar entre grupos en distintos estados fisiológicos. El momento más apropiado para obtener las muestras es cuando los mecanismos homeostáticos se encuentran fisiológicamente desafiados e inefectivos, siendo este el período de transición que es coincidente con la mayor incidencia de enfermedades de la producción. Por ello los grupos más analizados en un rebaño lechero son: (i) Vacas en transición pre-parto: 3 a 21 días preparto, idealmente 3 a 14 días; (ii) Vacas en transición pos-parto: 3 a 30 días en lactancia, idealmente 7 a 21 días y (iii) Vacas en inicio de lactancia: 45 a 80 días de lactancia, idealmente 50 a 70 días. De ellos con mayor frecuencia los veterinarios remiten muestras de los grupos 1 y/o 2.

De cada grupo, independiente del tamaño, se seleccionan 6 a 14 individuos, comúnmente 8 vacas, de las cuales se obtendrán las muestras a analizar. En lecherías de gran tamaño se recomienda subdividir los grupos, o bien, obtener un número mayor de muestras por grupo. Por ejemplo, con un lote de 200 vacas en lactancia se puede dividir en dos subgrupos por producción o edad. De cada animal seleccionado se

obtienen las muestras requeridas acorde con los exámenes a solicitar. Habitualmente corresponden a muestras de sangre (aprox. 5 mL con heparina y 5 mL para suero), las que deben ser obtenidas idealmente posterior al ordeño de la mañana ya que las concentraciones de algunos metabolitos como BHB, urea y P varían durante el día (Figura 3). Cuando el objetivo del PM es diagnosticar una enfermedad subclínica, los animales seleccionados deben ser aquellos que se encuentran en riesgo de presentar la enfermedad y aún no presentan signos clínicos. Para el diagnóstico de enfermedades en que se presentan individuos con signos clínicos se requiere seleccionar individuos que estén cursando con la enfermedad, pudiendo en este caso ser sólo 2 o 3 animales. Junto a las muestras se debe completar una solicitud de examen que debe contener información general del rebaño, motivo del examen, grupo(s) de animales incluidos, información de las vacas (producción, días respecto a parto, condición corporal, su manejo y alimentación) y los análisis requeridos.

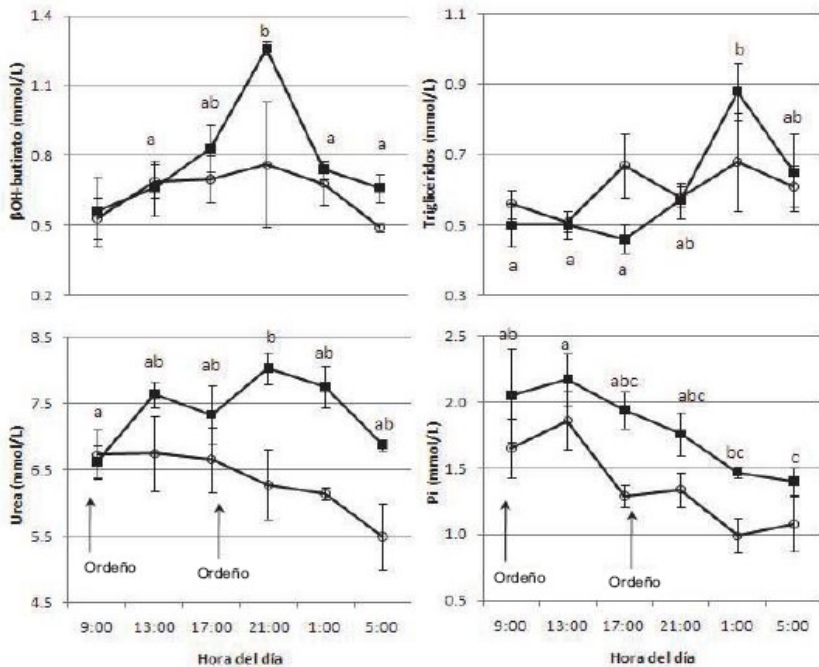


Figura 3. Variación diaria de las concentraciones plasmáticas ($x \pm EE$) de β -hidroxibutirato, urea, fosfato inorgánico (Pi) y triglicéridos en vacas lecheras a pastoreo (○) y suplementadas con concentrado energético (■) (Noro et al., 2011)

c) Análisis

Los análisis que se realizan en el laboratorio cuantifican en las muestras los valores de los analitos preseleccionados. La selección de los marcadores bioquímicos dependerá de los requerimientos diagnósticos, las posibilidades de laboratorio, las muestras obtenidas y los costos involucrados (Cuadro 5).

Los analitos mayormente utilizados se presentan a continuación.

Cuadro 6. Marcadores bioquímicos sanguíneos utilizados en perfiles metabólicos (Wittwer, 2012).

Variable	M	Intervalo de referencia	Valoración	T
Condición corporal (1 a 5)	-	2,5 a 4,0 puntos Según estado fisiológico	↑ o ↓ = acumulación o movilización de reservas grasas	C
β-OH-butilato	Su	Preparto: < 0,5 mmol/L Lactancia: < 1,0 mmol/L	↑ = mayor síntesis de cuerpos cetónicos por carencia de energía	A
NEFA	Su	Preparto < 0,4 mmol/L Lactancia < 0,6 mmol/L	↑ = movilización grasa por carencia de energía	A
Colesterol	Su	Preparto: 1,7 a 4,3 mmol/L Lactancia: 2,7 a 5,3 mmol/L	↓ = carencia de energía - fibra ↑ = exceso de grasa, alteración hepática.	C
Albumina	Su	30 – 41 g/L	↓ = Ingesta o síntesis hepática disminuida	C
Urea	Su	2,5 a 7,0 mmol/L	↓ = Ingesta limitada de RDP ↑ = Asincronía ruminal de RDP/energía (exceso RDP, falta de energía)	A
Calcio	Su	2,0 – 2,6 mmol/L	↓ Paresia hipocalcémica (sensibilidad baja)	A
Fosfato	Su	1,1 – 2,3 mmol/L	↓ Deficiencia de P (especificidad baja)	C
Magnesio	Su	0,7 - 1,1 mmol/L	↓ Hipomagnesemia	A
Sodio	Su	134 – 154 mmol/L	↓ Carencia de Na	C
Cobre	Pl	10 - 22 μmol/L	↓ Carencia de Cu	C
Zinc	Su	8 - 24 μmol/L	↓ Carencia de Zn	C
Selenio (GPx)	Sa	>130 U/g Hb	↓ Carencia de Se	C
Hemoglobina	Sa	90 -125 g/L	↓ = Anemia	C
AST	Su	< 110 U/L	↑ = Daño hepatocelular o muscular	A
GDH	Su	< 30 U/L	↑ = Daño hepato-celular	A
GGT	Su	< 40 U/L	↑ = Daño hepato-canalicular	C
Globulinas	Su	< 50 g/L	↑ = Infección (bienestar animal)	C
Haptoglobina	Su	-	↑ = Inflamación (bienestar animal)	A

M: muestra, Su: suero, Pl: plasma, Sa: sangre, T= tiempo de respuesta, A: agudo, C: crónico

Energía (BHB, NEFA, glucosa, colesterol)

El BHB es un buen marcador de respuesta rápida del grado de síntesis de cuerpos cetónicos asociado a la movilización de lípidos producto del BEN; es un analito de alta sensibilidad, especialmente en

vacas en lactancia, pero con limitada especificidad por la absorción de butirato ruminal. El NEFA también es un marcador de respuesta rápida y específico para movilización lipídica, siendo más sensible en vacas parto pero de costo analítico alto. Sus concentraciones aumentan notoriamente con la movilización grasa de inicio de lactancia por lo que se debe tener IR para pre y posparto. La glucemia es un marcador rápido del balance de energía, pero de baja sensibilidad limitando su uso. Junto a la obtención de la muestra se recomienda obtener la condición corporal (CC) de los animales, que es un buen indicador de respuesta lenta del balance de energía, por lo que su inclusión como analito en los resultados del PM amplía su utilidad. La colesterolemia es un indicador de consumo de la ración y de aporte de fibra en la dieta, por lo que su disminución se asocia a baja ingesta. Su concentración aumenta notoriamente con el aumento de consumo en el posparto requiriéndose IR para pre y posparto.

Proteínas (urea y albúmina)

La uremia es un marcador de respuesta rápida, sensible y específico de la sincronía de la proteína degradable (RDP) con la energía disponible en el rumen (RDP:E^o). Su mayor utilidad es en el diagnóstico de asincronía ruminal producto de una ingesta elevada de RDP o escasa en energía, situaciones en que incrementa su concentración en sangre y asociado a ello en la leche. La albuminemia es un marcador de respuesta lenta (2 semanas) frente a una disminución en la síntesis hepática de albúmina, producto de carencias en la dieta o un desgaste por sostener

altas producciones lácteas. Su sensibilidad es limitada y su especificidad baja ya que otras alteraciones orgánicas como la disfunción hepática cursan con hipoalbuminemia.

Minerales (Ca, P, Mg, Na, Cu, Zn, Se)

La calcemia es un indicador de utilidad sólo frente a cuadros clínicos o subclínicos de hipocalcemia, pues su intenso control hormonal tiende a mantener estable la concentración sanguínea, por lo que su sensibilidad para detectar desbalances nutricionales es baja, aunque últimamente se ha descrito la importancia de controlar las hipocalcemias ($Ca < 2,0$ mmol/L) en el período de transición por su asociación con procesos inflamatorios al inicio de lactancia. La fosfatemia es un marcador sensible y de respuesta rápida frente a situaciones de desbalances nutricionales de P, siendo su especificidad limitada; a su vez, en muestras antiguas o mantenidas en altas temperaturas sus concentraciones plasmáticas incrementan. La magnesemia es un marcador sensible, específico y de respuesta rápida del balance metabólico nutricional de Mg. La natremia es un analito de utilidad frente a desbalances severos del Na, aunque su control hormonal regula la concentración sanguínea, siendo por ello baja su sensibilidad para detectar carencias nutricionales. La cupremia y la zinquemia son marcadores de respuesta lenta y de sensibilidad media frente a carencias de Cu y Zn, siendo este último de baja especificidad. La determinación de la actividad sanguínea de glutatión peroxidasa (GPx) es un marcador

sensible y de respuesta lenta (1 mes) del balance metabólico nutricional de Se.

Salud y bienestar animal (globulinas, hemoglobina, haptoglobina, AST, GDH, GGT)

La globulinemia es un indicador de la presencia de cuadros infecciosos en el rebaño, encontrándose aumentada en animales con mastitis, metritis y pododermatitis, entre otras causas. Las actividades sanguíneas de las enzimas AST, GDH y GGT son marcadores de sensibilidad moderada de daño hepático en cuyo caso se encuentran aumentadas. La hemoglobinemia es un indicador sensible del estado general de salud de los animales y por ende de su bienestar, ya que cuadros de anemia se presentan en animales con carencias nutricionales crónica (proteínas, Fe, Cu, Co), cuadros tóxicos (exceso de *Brassicas*) o alteraciones orgánicas (hepatopatías, infecciones crónicas). Actualmente se plantea la determinación de proteínas de fase aguda como indicadores de bienestar animal, fundamentalmente la haptoglobina en bovinos, ya que sus concentraciones aumentan fuertemente en respuesta a inflamación independiente de su origen, infeccioso o traumático.

d) Informe de resultados

Para cada grupo de animales se construye un cuadro que incluye para cada uno de los analito evaluados los valores obtenidos de cada vaca seguido de los resultados del grupo que corresponden a la media (X), desviación estándar (DE), valores de “H” y “CD” y los porcentajes

de animales sobre y bajo los IR. El valor “H” representa la diferencia entre el valor promedio del grupo con el promedio de referencia, expresado en DE. Vale decir, indica la diferencia entre la media del grupo en estudio con respecto a la media de referencia expresado en desvíos estándar, de acuerdo a la siguiente fórmula: $H = (x \text{ del grupo} - x \text{ de referencia}) / DE \text{ de referencia}$.

El coeficiente de dispersión (CD), compara la magnitud de la varianza de los valores individuales del grupo con relación a la varianza de la población de referencia. En el Cuadro 6 se presenta como ejemplo un informe de resultado de un PM realizado a un grupo de 8 vacas en el cual se entregan los resultados de 9 analitos, además de la información de su producción lechera y la condición corporal (CC).

Cuadro 7. Perfil metabólico de un grupo de vacas Holstein, al inicio de lactancia

Vaca	Leche	Energía		Proteínas			Mineral			Salud y bienestar animal						
		CC	BIIB	URE	ALB	P	Mg	GPx	HEM	GLO	GDH					
	L	1-5	mmol/L	mmol/L	g/L	mmol/L	mmol/L	U/gHb	g/L	g/L	U/L					
1	27	2,8	0,50	11,2	+	31	1,30	0,85	190	112	47	29				
2	25	2,5	0,40	9,5	+	26	-	1,50	0,75	156	85	-	65	+	20	
3	29	3,3	1,90	+	8,7	+	30	1,80	1,05	100	-	125	+	48	55	+
4	26	2,5	0,80	+	9,8	+	32	1,60	0,90	131	128	+	43	23		
5	32	3,0	0,90	+	8,5	+	29	1,50	1,00	112	-	110	46	25		
6	33	3,0	0,40	10,5	+	34	1,40	0,90	130	115	44	26				
7	34	2,8	1,80	+	10,1	+	30	1,20	0,85	140	118	45	45	+		
8	28	2,9	0,90	+	8,9	+	31	1,46	0,95	146	120	46	24			
Grupo	Media	29	2,9	1,0	9,7	30	1,5	0,9	138	114	48	31				
	DE	3,4	0,3	0,6	0,9	2,3	0,2	0,1	28	13,3	7,1	12				
	H	0,9	0,6	4,3	4,4	-1,5	-0,8	0,1	-1,8	1,0	1,3	2,1				
	CD	0,7	1,1	4,0	0,9	0,8	0,6	0,8	0,8	1,7	1,2	1,6				
	% Bajo LI	0,0	0,0	0,0	0,0	12,5	0,0	0,0	25,0	12,5	0,0	0,0				
	% Sobre LS	0,00	0,0	62,5	100	0,0	0,0	0,0	0,0	25,0	12,5	25,0				
IR	Mínimo	35	2,5	0,1	2,6	29	1,1	0,66	130	90	28	-				
	Máximo	15	3,5	0,6	7,0	41	2,3	1,14	-	122	52	30,0				
	Media	25	3,0	0,3	4,8	35	1,7	0,9	200	106	40	15,0				
	DE	5	0,3	0,15	1,1	3,0	0,3	0,12	35	8,0	6,0	7,5				

+ o - señalan valores sobre o bajo el IR

Una alternativa, destinada a reducir el costo de análisis, es mezclar en volúmenes iguales, las muestras de suero o plasma de las vacas de cada grupo, comúnmente 1 mL de cada muestra, obteniendo así solo 1 *pool* de 8 o más mL en la cual se realizan los análisis correspondientes. Su interpretación se realiza de forma similar empleando el valor del *pool* en reemplazo de la media del grupo ya que equivale al valor de H. Se ha definido que se pueden agrupar hasta 20 muestras en un *pool*, logrando de este un valor equivalente a la media del grupo. La probabilidad de tener individuos con valores alterados en el rebaños es < 10% si el valor de “H” así calculado es < 0,5. Con este sistema se simplifica el trabajo y se reducen los costos, pero se pierde la información referida a la varianza entre los individuos del grupo, además de haber una pérdida de sensibilidad diagnóstica con el riesgo de no identificar rebaños en riesgo.

e) Interpretación

Evaluar la condición metabólica y sanitaria de un grupo de animales constituye uno de los aspectos más importantes y difíciles de realizar en el PM, requiriendo para ello tener un adecuado conocimiento de los mecanismos fisiológicos y nutricionales que afectan la concentración sanguínea de cada metabolito. Para la correcta interpretación de un PM se requiere considerar el objetivo por el cual fue solicitado y las posibles causas de variación de un analito, como son: (a) fisiológicas (preñez, lactancia, ambiente); (b) analíticas (errores de muestra y metrológicos); y (c) patológicas (desbalances metabólicos nutricionales y sanitarios). Si el PM considera más de un grupo se debe analizar primeramente los

resultados de cada grupo ordenados acorde con su estado productivo (transición preparto, transición posparto, inicio de lactancia), y luego relacionarlos entre ellos.

La interpretación se basa en comparar la media y la dispersión de los datos (DE) de cada variable, las que deben ser similares a las de la población de referencia que generó los IR. Basado en ello se considera que el grupo es diferente a la población de referencia, por ende presenta una alteración cuando:

- El valor de “H” es mayor a 2 (positivo o negativo), lo que indica que la media del analito difiere en más de ± 2 DE a la media poblacional; valor superior a 2 positivo cuando está aumentado o negativo cuando está disminuido.
- El valor de “CD” es mayor a 1, indica que la varianza entre los individuos del grupo es mayor que la varianza de la población de referencia. Este hecho se asocia a un factor, comúnmente de manejo, que provoca una diferencia no deseada entre los individuos del grupo. También se aprecia cuando el porcentaje de individuos del grupo con valores sobre o bajo el IR es mayor al 25%.

Los cambios en la concentración sanguínea de un marcador bioquímico son provocados no solo por su balance de ingreso – egreso, sino también por otros nutrientes, existiendo una relación entre ellos. Por ejemplo, el colesterol se asocia a la ingesta de materia seca, el β HB al uso de reservas de grasa y la urea a la relación RDP/energía en el rumen; por ello los tres están asociados al balance de energía y se asocian entre ellos. Cualquier alteración en los resultados del perfil metabólico debe ser analizada considerando la estación del año, grupo(s) de animales

afectados y las posibles causas que pueden provocar variaciones en la concentración sanguínea de un analito. Información sumaria de la valoración diagnóstica de los analitos utilizados en el PM se presenta en el Cuadro 5. El PM del grupo de 8 vacas Holstein, al inicio de lactancia presentado en el Cuadro 6 corresponde a un rebaño a pastoreo de praderas naturalizadas y suplementadas con 4 kg/d de concentrado y que presenta índices reproductivos bajo lo esperado. De su análisis se aprecia que es un grupo homogéneo, con adecuada condición corporal, pero con intenso BEN (BHB =1,0 mmol/L, H =4,3) y asincronía ruminal de proteínas:energía (urea = 9,7 mmol/L, H= 4,4). El balance mineral es adecuado y la condición general de salud del rebaño no evidencia alteraciones trascendentes, si bien hay 2 posibles casos de lipidosis hepática (GDH > 30 U/L) asociados al BEN y una vaca cursa un cuadro infeccioso crónico con anemia (globulinas > 52 g/L y hemoglobina < 90 g/L) que explican sus elevados valores del CD del grupo. El veterinario a cargo del rebaño debe juzgar la trascendencia de las alteraciones detectadas en función de la magnitud del cambio y los antecedentes del rebaño, fundamentalmente sanitarios, nutricionales, de producción y manejo.

El empleo de los PM en el sur de Chile ha permitido en numerosas oportunidades que el ganadero o el nutricionista, asesorado por el médico veterinario, adopte las medidas correctivas que han permitido prevenir o superar problemas productivos, de fertilidad y sanitarios en muchos rebaños. Es así que entre los años 1986 y 2010 se realizaron un promedio de 129 PM anuales en grupos de vacas lecheras preparto e inicios de lactancia, en los cuales las alteraciones mayormente

diagnosticadas fueron: BEN, asincronía ruminal de proteínas degradables/energía, hiperfosfatemia, hiponatremia, y carencia de selenio (Figura 4), con excepción de esta última, que disminuyó durante el último decenio, las restantes aumentaron fuertemente en dicho período.

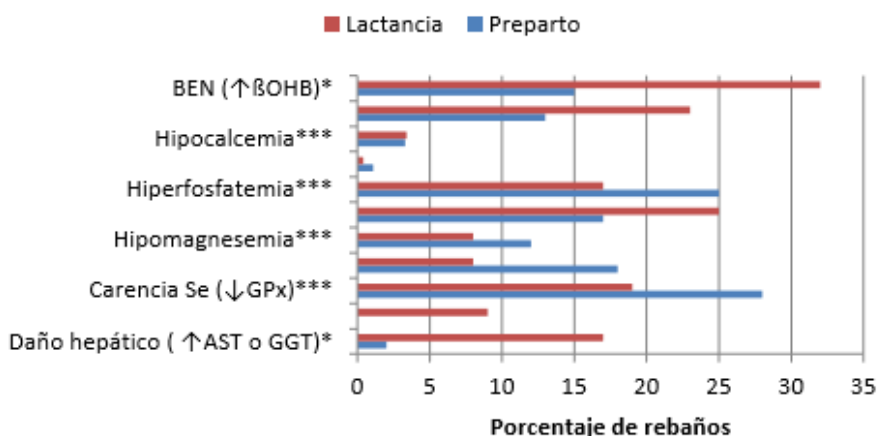


Figura 4. Porcentaje de rebaños con alteraciones metabólicas diagnosticadas mediante perfiles metabólicos realizados en el sur de Chile a 3.216 grupos de vacas parto e inicio de lactancia (Weschenfelder et al., 2010*; Noro et al., 2011; Wagemann et al., 2014***)**

Referencias

- Bertoni G. 1999. Guida alla interpretazione dei profili metabolici. Univ. Perugia. 135p.
- Bertoni G, E Trevisi. 2013. Use of the liver activity index and other metabolic variables in the assessment of metabolic health in dairy herds. *Vet. Clin. Food Anim.* 29, 413–431.
- Chapinal N, SJ LeBlanc, ME Carson et al. 2012. Herd-level association of serum metabolites in the transition period with disease, milk production, and early lactation reproductive performance. *J. Dairy Sci.* 95, 5676–82.
- Duffield TF. 2007. Peripartum metabolic profiling. *Proc. Am. Assoc. Bov. Pract.* 40, 213-218.
- Duffield TF, Lissemore KD, McBride BW, Leslie KE. 2009. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *J. Dairy Sci.* 92, 571–580.
- Herdt TH, Dart B, Neuder L. 2001. Will large dairy herds lead to the revival of metabolic profile testing? *Proceed. Am. Assoc. Bov. Pract. Conference* 34, 27-34.
- LeBlanc SJ, Leslie KE, Duffield TF. 2005. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 88, 159-170.
- Melendez P, Marin MP, Robles J, Rios C, Duchens M, Archbald L. 2009. Relationship between serum nonesterified fatty acids at calving and the incidence of periparturient diseases in Holstein dairy cows. *Theriogenology* 72, 826–833.
- Noro M, J Borkert, GA Inostroza, R Pulido, F Wittwer. 2011. Variaciones diarias de metabolitos sanguíneos y su relación con el comportamiento alimenticio en vacas lecheras a pastoreo primaveral. *Revista Científica FCV-LUZ* 21, 125-130.
- Noro M, R Chihuailaf, J Céspedes, F Wittwer. 2010. Acidosis subaguda (SARA) y alcalosis ruminal en rebaños lecheros en pastoreo otoñal y primaveral. *XXXV Congreso Soc. Chilena Prod. Animal.* p. 193-194.

- Ospina PA, Nydam DV, Stokol T, Overton TR. 2010. Evaluation of nonesterified fatty acids and β hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. *J. Dairy Sci.* 93, 546-554.
- Ospina P, JA McArt, TR Overton, Stokol T, DV Nydam. 2013. Using nonesterified fatty acids and β hydroxybutyrate concentrations during the transition period for herd-level monitoring of increased risk of disease and decreased reproductive and milking performance. *Vet. Clin. Food Anim.* 29, 387-412.
- Ospina PA, Nydam DV, Stokol T, et al. 2010. Associations of elevated nonesterified fatty acids and β hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the north-eastern United States. *J. Dairy Sci.* 93, 1596–603.
- Oetzel GR. 2004. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Vet. Clin. Food Anim.* 20, 651-674.
- Payne JM, Payne S. 1987. *The metabolic profile test.* Oxford: Oxford University Press. 179 p.
- Sepúlveda-Varas P, DM Weary, M Noro, MAG von Keyserlingk. 2015. Transition diseases in grazing dairy cows are related to serum cholesterol and other analytes. *PLoS ONE* 10, 1-13.
- Sommer H. 1975. Preventive medicine in dairy cows. *Vet. Med. Rev.* 1, 42-63.
- Sordillo LM, V Mavangira. 2014. The nexus between nutrient metabolism, oxidative stress and inflammation in transition cows. *Animal Production Science* 54, 1204–1214.
- Van Saun RJ. 2009. Metabolic profiling. In: Anderson DE, Rings DM, editors. *Current Veterinary Therapy, Food Anim Prac.* WB Saunders Company. p. 153–164.
- Wagemann C, Chihuailaf R, Wittwer F, Noro M. 2014. Estudio retrospectivo de la prevalencia de desbalances minerales en grupos de vacas lecheras en el sur de Chile. *Arch. Med. Vet.* 46, 363373.

- Weschenfelder M, Barboza C, Wagemann C, Böhmwald H, Chihuailaf R, Wittwer F, Noro M. 2010. Presentación de desbalances energéticos y alteraciones hepáticas en rebaños lecheros de Chile durante 1986 – 2010. XXXV Congreso Soc. Chilena Prod. Animal. p. 179-180.
- Whitaker D, Kelly JM. 1995. Use and interpretation of metabolic profiles in dairy cows. Dept. Vet. Clin. Studies, Univ. Edimburgh. 13 p.
- Wittwer F. 2000. Marcadores bioquímicos no controle de problemas metabólicos nutricionais em gado de leite. In: González FHD, Barcellos JO, Ospina H, Ribeiro LAO, eds. Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. UFRGS, Brasil. p. 53-62.
- Wittwer F. 2012. Manual de patología clínica veterinaria. Imprenta América, Valdivia, Chile. 200 p.

Variações na qualidade composicional do leite no Rio Grande do Sul³

Carlos Bondan

Universidade de Passo Fundo

Introdução

A produção brasileira de lácteos cresceu 57,5% nos últimos onze anos e mesmo assim, a balança comercial encontra-se historicamente deficitária. A melhoria do poder aquisitivo da população brasileira tem contribuído para o aumento do consumo e a manutenção de preços atraentes ao produtor, o que estimula o crescimento do setor lácteo no Brasil (Montoya et al., 2014). Segundo o IBGE (2013) o Rio Grande do Sul (RS) está na segunda posição na produção de leite, depois de Minas Gerais, e ocupa a primeira posição na produtividade entre os estados brasileiros. Em 2012, a média de produção no RS foi 2.670 L/vaca/ano, bem acima da média brasileira (1.417 L/vaca/ano). Segundo Montoya et al. (2014) no período de 2001 a 2012 a produção no Rio Grande do Sul cresceu 82,24%, o número de vacas ordenhadas aumentou 25,9% e a produtividade aumentou 44,7%, sendo um indicador da profissionalização da produção leiteira no estado. O leite é um dos alimentos mais ricos encontrados na natureza, composto por mais de

³ Bondan, C. 2015. Variações na qualidade composicional do leite no Rio Grande do Sul. II Simpósio Nacional da Vaca Leiteira. Anais. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 63-93.

100.000 moléculas que colaboram com a nutrição e a imunidade dos mamíferos, servindo também como matéria prima para industrialização, possibilitando a produção de inúmeros derivados que servem como alimento para todas as faixas etárias dos humanos (Bachman, 1992).

A glândula mamária tem um incrível nível de organização e uma notável capacidade de converter nutrientes presentes na circulação sanguínea em componentes do leite. Sua síntese necessita de intenso trabalho metabólico e sua composição é influenciada pela espécie, raça, alimentação, estágio de lactação e estado sanitário das fêmeas. Nos bovinos, espécie mais utilizada na exploração leiteira devido ao volume de leite produzido, a síntese de 1 L de leite demanda aproximadamente 450 L de sangue, que ao percorrerem o tecido mamário, entregam nutrientes para a síntese láctea (Gonzalez, 2001). A composição química do leite pode ser dividida em constituintes principais e secundários. Como constituintes principais têm a água, gordura, proteínas e lactose e os secundários os minerais, vitaminas, enzimas, além de células de descamação do epitélio mamário e leucócitos (Dürr et al., 2000). O acompanhamento da composição do leite é importante para a avaliação da dieta e do metabolismo das vacas em lactação, classificação do leite pelo seu valor como matéria prima para a indústria processadora e verificação da integridade do leite quanto à adição ou retirada de componentes (Dürr et al., 2001).

Sólidos não gordurosos (SNG)

A nutrição da vaca tem efeito marcante sobre a composição do leite, principalmente, no teor de gordura. O valor de SNG do leite é composto por proteínas, lactose e minerais, e pode variar em função de mudanças na dieta, porém em menor intensidade do que a gordura. Outros fatores que influenciam o valor de SNG são a genética, as doenças, estádios de lactação e as estações do ano. Mudanças que ocorrem no valor de SNG do leite são primariamente devidas às mudanças na proteína e ocasionalmente ao teor de lactose. O fornecimento de proteína na dieta, além do requerido conforme o NRC (2001) parece não exercer efeito sobre o teor de SNG. Entretanto, o fornecimento extra de energia para vacas de alta produção pode aumentar o valor de SNG em torno de 0,2%. Por outro lado, a redução no suprimento energético para níveis inferiores aos recomendados pode resultar em queda de 0,2 a 0,5%. Adição de fontes de gordura (animal-vegetal) na dieta tem apresentado resultados variados no valor de SNG.

Proteína

Atualmente a proteína é o nutriente mais valorizado nos sistemas de pagamento por qualidade do leite, sendo a caseína seu principal componente. Depois da gordura, a proteína é o componente que mais varia em função de fatores ambientais, incluídos os nutricionais. Contudo, o potencial de alteração do teor de proteína no leite através da nutrição não é muito grande (em torno de 0,5%). Entretanto, à medida

que aumenta o teor de proteína no leite, como a melhoria na energia da dieta, geralmente aumenta a produção total, o que não ocorre com a gordura (Carvalho, 2002). As proteínas do leite (caseínas e lactoglobulinas) são sintetizadas nas células secretoras da glândula mamária a partir de aminoácidos provenientes do sangue ou transportados do sangue. No entanto, alguns aminoácidos podem ser sintetizados na própria glândula mamária, através da utilização de precursores como a glicose, acetato e outros aminoácidos. A estrutura da proteína é determinada pela informação genética contida no DNA da célula, servindo de molde para uma fita de RNA, que contém a informação sobre a sequência de aminoácidos para síntese das proteínas. A síntese das proteínas ocorre no retículo endoplasmático rugoso, sendo posteriormente secretadas para o lúmen das células através de vacúolos. A caseína constitui de 76 a 86% do total de proteína láctea, sendo o componente determinante do rendimento industrial na produção de queijo. É sintetizada pelas células secretoras, como resultado da expressão de quatro genes (dois genes para α -caseína, s1 e s2; um para β -caseína e um para κ -caseína), sendo secretada na forma de micelas, que são grupamentos de várias moléculas de caseína ligadas a íons como o fosfato e o cálcio, e se encontram em suspensão no leite (De Peters & Cant, 1992). Ao contrário das caseínas, as proteínas do soro do leite, são aquelas em solução, produzidas na glândula mamária (α -lactoalbumina e β -lactoglobulina) e uma pequena porcentagem de proteínas que podem passar diretamente do sangue para a glândula mamária (albumina sérica e imunoglobulinas). O leite possui ainda uma fração de nitrogênio-não-protético (NNP), constituindo cerca de 5% da proteína bruta do leite,

composto principalmente de ureia (cerca de 48%) e, em menor quantidade, de creatinina, amônia e outros compostos nitrogenados (De Peters & Cant, 1992). Uma equação para predizer a porcentagem de proteína verdadeira no leite foi proposta pelo NRC (2001), sendo 93% do valor de proteína bruta do leite.

De forma geral, as estratégias nutricionais que visam o aumento da proteína do leite devem ter como princípio o maior suprimento de aminoácidos e energia (glicose) para a glândula mamária. A utilização de aminoácidos pela glândula mamária é dependente de uma série de fatores como, irrigação sanguínea da glândula mamária, concentração arterial de aminoácidos, eficiência no transporte e regulação intracelular das vias metabólicas. Segundo Murphy & O'Mara (1993), a limitação da produção de proteína pela glândula mamária é devido principalmente aos seguintes aminoácidos: metionina, lisina, fenilalanina, histidina, ou treonina. O aumento no fornecimento de aminoácidos para a glândula mamária pode ser obtido através do aumento na quantidade de aminoácidos que chegam ao intestino delgado (proteína microbiana e proteína não degradada no rúmen), resultando em maior quantidade de aminoácidos absorvidos e disponíveis. Aminoácidos resultantes da mobilização proteica (endógena) também colaboram para esse *pool*. De forma geral, lisina e metionina são consideradas aminoácidos limitantes. O teor de proteína bruta da dieta possui efeito muito pequeno sobre o teor proteico do leite. No entanto, o fornecimento de dietas com deficiências de proteína pode reduzir a concentração deste nutriente em 0,1 a 0,2 unidades percentuais (Sutton, 1989), além de limitar a produção

de leite. Pode-se dizer que a variação no teor proteico da dieta afeta muito mais a produção de leite do que sua composição.

Lactose

A lactose é um dissacarídeo formado por glicose e galactose com união α 1-4 e sintetizada exclusivamente na glândula mamária ativa. A síntese é realizada no aparelho de Golgi das células do epitélio mamário. As moléculas precursoras, glicose e galactose, provêm principalmente da glicose sanguínea ou de substâncias rapidamente conversíveis em glicose, através da via gliconeogênica como o propionato, o piruvato, o oxalacetato e os aminoácidos. Metade da glicose que chega à glândula mamária é direcionada para a síntese de lactose, e a outra metade para a formação de glicerol, necessário para a síntese dos triglicerídeos do leite (Gonzalez & Silva, 2006). No leite dos bovinos, a lactose apresenta concentração de 4,6% e é considerado o constituinte mais constante. Sua função está relacionada com a manutenção da osmolaridade e com os processos de produção e secreção do leite (Larson, 1995). A lactose corresponde por aproximadamente 50% da capacidade de atração de água para o interior do alvéolo mamário, sendo responsável por sustentar a produção de leite. Essa é, provavelmente, a razão de ser o componente com a menor variação (Gonzalez et al., 2011). Embora se considere que a lactose é o componente lácteo que apresenta menor variação, trabalhos anteriores realizados no Brasil revelam diferenças significativas em relação a variáveis ambientais. Fatores que rompem o equilíbrio metabólico da glândula mamária tais como a mastite, podem diminuir o

conteúdo de lactose no leite (Gonzalez et al., 2011). Assim, deve se esperar que aumentos na CCS estejam relacionados com menor teor de lactose.

Segundo Hurley (2004) a lactose é relativamente insensível às mudanças na dieta das vacas, no entanto, vacas subnutridas apresentam redução na produção de leite e na percentagem de lactose, sendo que estes sinais são revertidos quando dietas adequadas são fornecidas. Em situações de balanço energético negativo (cetose), principalmente no pré ou pós-parto imediato, em que não há pico de lactação, há diminuição no teor de lactose. A sua produção no úbere está relacionada à produção de propionato no rúmen e disponibilidade de produtos gliconeogênicos. Quanto mais lactose for produzida, maior é o volume de água arrastado para dentro do alvéolo, aumentando o volume de leite (Mühlbach, 2003). Existem também relatos de que a baixa relação forragem:concentrado na dieta pode aumentar a lactose do leite e que a elevada suplementação com gorduras pode causar diminuição (Sutton, 1989). Embora estas mudanças sejam estatisticamente significativas, elas são tão pequenas que a lactose do leite não pode ser usada como um valor prático indicador do “status” nutricional do animal.

Gordura

O componente lipídico do leite é formado por uma complexa mistura, sendo os triglicerídeos os mais importantes. Estes são compostos de três ácidos graxos em ligação covalente a uma molécula de glicerol por pontes de éster. A gordura do leite é secretada das células

mamárias na forma de glóbulos graxos, principalmente compostos de triglicerídeos rodeados de uma dupla camada lipídica similar à membrana apical da célula epitelial. A fração de gordura do leite serve de veículo para as vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K), colesterol e outras substâncias solúveis em gordura, como os carotenóides (provitamina A), que dão ao leite sua cor amarelo-creme. A quantidade e a composição dos triglicerídeos do leite variam muito entre as espécies. Nos ruminantes, a proporção de ácidos graxos de cadeia curta e insaturados é bem maior que nos monogástricos (Gonzalez & Silva, 2006). Os ácidos graxos do leite são oriundos de duas fontes, da síntese “do novo” na glândula mamária e da captação direta na circulação sanguínea. Ácidos graxos de cadeia curta, contendo entre 4 e 8 carbonos, e de cadeia média, com 10 a 14 carbonos, provêm quase que exclusivamente da síntese “do novo”. Os ácidos graxos de cadeia longa, constituídos por cadeias superiores a 16 carbonos, são derivados da captação direta dos lipídeos da corrente sanguínea pela glândula mamária. Os ácidos graxos com 16 carbonos podem ser obtidos através das duas fontes. Cerca de metade dos ácidos graxos do leite são sintetizados pela própria glândula mamária, a partir da síntese “de novo”. Esta via utiliza como principal fonte de carbono o acetato produzido na fermentação ruminal.

Outra fonte para a síntese “de novo” é o β -hidroxibutirato produzido pelo epitélio ruminal, a partir do butirato. Os ácidos graxos pré-formados captados pela glândula mamária e diretamente usados para a síntese de gordura do leite são derivados das lipoproteínas circulantes provenientes da mobilização de reservas corporais e dos ácidos graxos não

esterificados originários da absorção dos lipídeos no trato gastrointestinal. Em condições normais, a lipólise é responsável por menos de 10% dos ácidos graxos da gordura do leite, sendo a maior parte dos ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) do leite proveniente da absorção intestinal. No entanto, animais em balanço energético negativo, com grande mobilização de gordura corporal, têm a lipólise como fonte de uma maior contribuição de gordura do leite (Bauman & Griinari, 2003). A gordura é o principal componente energético do leite, sendo também responsável pelas propriedades físicas às características industriais, e as qualidades organolépticas do leite e seus derivados, por isso, a gordura láctea possui um importante valor econômico.

No Brasil, ainda persiste o pagamento do leite pela produção total e o teor de gordura. Nos últimos anos, diversos países têm dado maior ênfase para o teor de proteína, utilizando este critério nos sistemas de pagamento por qualidade. Esta tendência se explica porque, enquanto a gordura tem tido seu valor reduzido pelos hábitos de consumo da população, a proteína tem sido valorizada por ser determinante do rendimento industrial de derivados lácteos (Monardes, 1998). No Brasil a Instrução Normativa IN 51/2002 estabelece que o limite mínimo para a gordura no leite cru refrigerado deve ser de 3%. Vários aspectos exercem efeito sobre a concentração de gordura no leite. O fator racial e a seleção genética, o estágio de lactação, a temperatura ambiente e as condições de estresse do animal, a perda de condição corporal, a estação do ano, a contagem de células somáticas, a saúde geral do animal, a manifestação de cio, a frequência e a técnica de ordenha e, principalmente, os fatores nutricionais têm sido implicados como fatores

que contribuem com a variação da constituição lipídica do leite (Gonzalez & Campos, 2003; Noro et al., 2006; Barbano, 1990; Carvalho, 2002; Ribas et al., 2001; Marques et al., 2002). Em ruminantes, a composição dos ácidos graxos da dieta não reflete a composição dos ácidos graxos da gordura do leite, devido a que os constituintes lipídicos da dieta são alterados pelo metabolismo microbiano (Bauman & Griinari, 2003).

Os fatores nutricionais são os que podem alterar de forma mais direta e com resultados mais rápidos e evidentes a gordura do leite. No entanto, a manipulação da dieta visando alterações na gordura do leite demanda conhecimento aprofundado, uma vez que esta manipulação afeta não somente a fermentação ruminal, como também o metabolismo geral do animal (Mühlbach, 2003). A alimentação fornecida para as vacas leiteiras influencia o funcionamento normal do rúmen. Para manter a ruminação e a conseqüente produção de saliva, a dieta deve apresentar uma relação mínima de volumoso/concentrado de 50/50 para manutenção de um pH adequado, acima de 6,0, quando a fermentação da fibra é favorecida, propiciando uma maior ingestão de matéria seca e, conseqüentemente, maior produção de leite. A efetividade da fibra utilizada também deve ser levada em conta, o que se reflete diretamente na condição ruminal e na gordura do leite. A fibra efetiva atua estimulando a ruminação e a produção de saliva, o que mantém o pH favorável para a digestão da fibra, resultando em maior disponibilidade de ácido acético, o principal precursor da gordura no leite (Mühlbach, 2003). O fornecimento de grandes quantidades de carboidratos prontamente fermentáveis e reduzida quantidade de fibra, ou dietas com

quantidade adequada de fibra, mas com fibra de pouca efetividade, possuem pouca capacidade de manutenção do funcionamento normal do rúmen, podendo assim, levar a depressão na gordura do leite (Bauman & Griinari, 2003). Quando o consumo de concentrados ultrapassa 50% da matéria seca da dieta, ocorre depressão na gordura do leite e mudanças também na composição dos ácidos graxos (Palmquist et al., 1993). A suplementação com óleos poli-insaturados, provenientes de fontes vegetais ou marinhas, também reduzem a gordura do leite. O mesmo ocorre quando sementes de oleaginosas, ricas em ácidos graxos poli-insaturados, são adicionadas em grande quantidade à dieta (Bauman & Griinari, 2003). Griinari et al. (1998) confirmaram que dietas pobres em fibra e ricas em ácidos graxos insaturados (óleo de milho) aumentam o conteúdo de C18:1 trans. Segundo estes mesmos autores, este tipo de dieta está associado a uma diminuição significativa na produção e conteúdo da gordura do leite.

A utilização de aditivos também interfere na síntese de gordura. É o caso dos tamponantes e alcalinizantes que minimizam a queda do pH ruminal, favorecendo a digestão da fibra, e dos manipuladores de fermentação (ionóforos) que alteram o perfil dos ácidos graxos voláteis (AGV) no rúmen, reduzindo perdas com metano e gás carbônico e diminuindo a relação acetato/propionato. Em dietas com grandes quantidades de concentrados (acima de 50% da matéria seca), ou grandes quantidades de alimentos fermentados, recomenda-se o uso de bicarbonato de sódio ou suplementos minerais tamponantes para normalizar o ambiente ruminal e, conseqüentemente, o teor de gordura do leite. Nestes casos, a ação dos tamponantes alimentares compensa a

menor ruminação, que por sua vez proporciona uma menor taxa de salivação e tamponamento natural do rúmen. Como o bicarbonato de sódio é de curta ação no rúmen, aditivos probióticos, como cepas específicas de leveduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*) vêm sendo utilizadas como complemento aos sais tamponantes. Em face de sua ação metabólica mais prolongada no rúmen, a levedura promove uma maior estabilidade do rúmen, mantendo o ambiente ruminal mais favorável à digestão da celulose por elevar a densidade populacional das bactérias celulolíticas e consumidoras de lactato (Mühlbach, 2003). A adição de monensina à dieta de vacas leiteiras diminuiu a produção de metano e a ingestão de matéria seca (Beckett et al., 1998) . A gordura total e a percentagem de gordura diminuíram temporariamente. No entanto, a produção de leite e a quantidade de todos os ácidos graxos insaturados aumentaram, incluindo o ácido linoleico conjugado (CLA), enquanto os saturados diminuíram.

Várias teorias têm sido propostas na tentativa de se explicar a depressão da gordura do leite, sendo a base para o desenvolvimento de todas as teorias os processos microbianos no rúmen (Bauman & Griinari, 2003). Das diversas teorias propostas, três delas continuam tendo suporte na literatura científica. A primeira delas sugere que o maior fornecimento de concentrado na dieta, com elevação da proporção concentrado/volumoso, aumenta a produção de ácidos no rúmen, o que promove a queda do pH ruminal. Em pH baixo, a degradação da fibra é comprometida, promovendo alterações na fermentação ruminal, resultando em inadequada produção de acetato e butirato, limitando sua utilização na síntese da gordura do leite. Bauman & Griinari (2003)

concluem que a variação na concentração de gordura do leite é justificada pelas variações na proporção molar de AGV no rúmen. Em outros estudos, observou-se que a produção de acetato não foi afetada significativamente, no entanto, a relação molar de acetato/propionato do fluido ruminal apresentou forte queda. Essa queda na relação acetato/propionato foi proporcionada, principalmente, pela elevação na produção de propionato e não pela queda na produção de acetato (Bauman et al., 1971). Apesar das evidências de que em dietas com baixa fibra a produção de acetato e butirato não são afetadas de forma apreciável, um déficit desses AGV é frequentemente considerada como colaborador na redução da gordura do leite. Isto pode ser atribuído ao fato de que dietas com baixa fibra normalmente reduzem o pH e isto afetará a taxa relativa de absorção individual de ácidos graxos voláteis. A segunda teoria ou teoria glicogênica-insulina é baseada na competição por nutrientes, entre a glândula mamária e outros tecidos. Dietas com baixa fibra resultam em aumento da produção de propionato no rúmen e elevação da taxa de gliconeogênese hepática. Além disto, estas dietas resultam em melhor balanço energético devido a maior ingestão de energia e redução na secreção da gordura do leite. Como consequência dessa combinação de fatores, a concentração de insulina no sangue é aumentada, desviando nutrientes da glândula mamária. Isto ocorre porque a insulina aumenta a utilização de acetato, β -hidroxibutirato e AGCL no tecido adiposo, ou seja, há um aumento da lipogênese. Além disso, a insulina também reduz a mobilização dos AGCL das reservas corporais. A teoria glicogênica tem sido avaliada por meio de infusões exógenas de propionato e glicose. Os resultados encontrados de redução

na gordura do leite têm se mostrado altamente variáveis, entre 0 e 14%. A terceira teoria é a que, na última década, tem recebido maior suporte dos pesquisadores. Esta teoria sugere que certas dietas alteram a biohidrogenação dos ácidos graxos insaturados no rúmen, produzindo ácido graxo intermediário denominado de ácido linoleico conjugado (CLA) trans-10, cis-12. Estes AGCL teriam uma potente ação inibidora da síntese de gordura no leite. O CLA trans-10, cis-12 diminui a capacidade lipogênica da glândula mamária (taxas de incorporação de acetato em ácidos graxos) e a expressão de genes de enzimas relacionadas ao transporte de ácidos graxos circulantes, diminui a síntese “de novo” de ácidos graxos, a dessaturação de ácidos graxos e a formação de triglicerídeos.

Contagem de Células Somáticas (CCS)

Células somáticas são todas as células presentes no leite, que incluem as células originárias da corrente sanguínea como leucócitos e células de descamação do epitélio glandular secretor. Em casos de inflamação (mastite), há um aumento considerável na CCS, principalmente por neutrófilos. É importante quantificar e qualificar os tipos celulares presentes para conhecer o grau de inflamação e caracterizar se a doença é aguda ou crônica. Além do aumento do número de células, a mastite provoca alterações nos três principais componentes do leite, gordura, proteína e lactose. A extensão do aumento da CCS e as mudanças na composição do leite estão diretamente relacionadas com a superfície do tecido mamário atingido

pela reação inflamatória. Portanto, há uma relação direta entre a CCS e a concentração dos componentes do leite. Em relação às proteínas ocorre uma redução naquelas sintetizadas na glândula mamária (α e β caseína, α -lactoalbumina e β -lactoglobulina) e aumento das proteínas de origem sanguínea (albumina sérica e imunoglobulinas), em virtude do aumento de permeabilidade vascular secundário ao processo inflamatório. A proteína total do leite tem pouca variação, mas a concentração de cada tipo de proteína varia acentuadamente (Ribas, 1999).

A CCS no leite é uma ferramenta valiosa na avaliação e estimativa das perdas quantitativas e qualitativas da produção do leite e derivados, como indicativo da quantidade do leite produzido na propriedade e para estabelecer medidas de prevenção e controle da mastite. Uma dessas medidas pode ser a implantação de protocolos de manejo de ordenha. Como consequência de altos níveis de células somáticas, observam-se prejuízos tanto ao produtor de leite quanto à indústria de laticínios. As maiores perdas causadas ao produtor estão relacionadas à redução da produção. Consequentemente, esta redução gera problemas de captação da matéria-prima para a indústria (Fonseca & Santos, 2000). As perdas sofridas pela indústria são causadas pelas alterações químicas e microbiológicas do leite com alta CCS, acarretando em diminuição do rendimento industrial e redução de sua qualidade final. Nas condições brasileiras, considera-se que, em animais sadios, a CCS individual no leite deve ser menor de $300 \times 10^3/\text{mL}$ (Fonseca & Santos, 2000), mas em países com maior desenvolvimento esse limite chega a $200 \times 10^3/\text{mL}$ (Philpot, 1998). A contagem de células somáticas de tanque (CCST) possui limites legais maiores, sendo de $400 \times 10^3/\text{mL}$ em países da União

Europeia e Austrália, de $500 \times 10^3/\text{mL}$ no Canadá e de $750 \times 10^3/\text{mL}$ nos EUA (Brito, 2003). No Brasil, a determinação legal para CCST (Instrução Normativa IN 62/2011) é de $500 \times 10^3/\text{mL}$, valor que deve diminuir para $400 \times 10^3/\text{mL}$ a partir de primeiro de julho de 2016.

Variação da produção e composição do leite no Rio Grande do Sul

Para compreender os fatores que influenciam a produção e a composição do leite produzido no Rio Grande do Sul foi realizado um estudo em 115 fazendas leiteiras que ordenhavam vacas da raça Holandesa e realizavam controle leiteiro no período de janeiro de 2008 a dezembro de 2013. Os efeitos do ano, das estações do ano, das etapas da lactação e do número de lactações foram comparados com as variáveis: produção e composição do leite. A produção média de leite no período foi de $25,54 \pm 8,63$ L/vaca/dia, superior às médias brasileiras (4,64 L/vaca/dia), catarinenses (8,26 L/vaca/dia) e gaúchas (8,75 L/vaca/dia) considerando lactações de 305 dias (Montoya et al., 2014) e superiores às produções das vacas de raça Holandês descritas por Noro et al. (2006) no Rio Grande do Sul (19,36 L/vaca/dia), Nunes Jr et al. (2000) em Pernambuco (16,7 L/vaca/dia), Araújo et al. (2000) em Minas Gerais (17,02 L/vaca/dia) e Bajaluk et al. (1999) no Paraná (24,77 L/vaca/dia). Costa et al. (2013) estudaram a produção de leite em 24 rebanhos na região dos Campos Gerais no estado do Paraná no período de janeiro de 2010 a dezembro de 2012 e encontraram produção média de $30,9 \pm 3,7$ L/vaca/dia. Estas diferenças de produtividades estão relacionadas com o

balança nutricional, características raciais e genéticas, assim como as condições ambientais (Dürr et al. 2011).

O efeito do ano sobre a produção e composição láctea está apresentado na Tabela 1. Entre 2008 e 2010 ocorreu diminuição da produção acompanhada pelo aumento do escore de células somáticas (ECS).

Tabela 1. Médias anuais (\pm desvio padrão) de produção, composição química e escore de células somáticas (ECS) entre o período de janeiro de 2008 a dezembro de 2013 no Rio Grande do Sul

Ano	Produção (L/vaca/dia)	Gordura (%)	Proteína (%)	Lactose (%)	Sólidos totais (%)	ECS [#]
2008	26,2 \pm 9,08 ^b	3,37 \pm 0,65 ^d	3,18 \pm 0,38 ^d	4,43 \pm 0,25 ^c	11,9 \pm 0,94 ^d	4,95 \pm 2,01 ^e
2009	25,2 \pm 8,41 ^d	3,38 \pm 0,66 ^d	3,17 \pm 0,37 ^e	4,41 \pm 0,26 ^d	11,9 \pm 0,94 ^d	5,26 \pm 1,87 ^b
2010	24,6 \pm 8,14 ^f	3,40 \pm 0,68 ^c	3,23 \pm 0,35 ^c	4,46 \pm 0,25 ^b	12,1 \pm 1,02 ^c	5,45 \pm 1,61 ^a
2011	25,0 \pm 8,21 ^e	3,50 \pm 0,67 ^b	3,26 \pm 0,37 ^b	4,46 \pm 0,25 ^b	12,2 \pm 1,01 ^b	5,30 \pm 1,61 ^b
2012	25,5 \pm 8,53 ^c	3,50 \pm 0,69 ^b	3,28 \pm 0,39 ^a	4,46 \pm 0,25 ^b	12,2 \pm 0,99 ^b	5,14 \pm 1,70 ^d
2013	26,8 \pm 8,63 ^a	3,52 \pm 0,67 ^a	3,24 \pm 0,38 ^c	4,49 \pm 0,25 ^a	12,2 \pm 0,95 ^a	5,19 \pm 1,58 ^c

[#]ECS= logaritmo da CCS. Letras diferentes indicam diferenças entre linhas (anos).

Houve crescimento progressivo da produção de leite de 2010 a 2013 em 8,2% e diminuição do ECS. A gordura e os sólidos totais aumentaram progressivamente entre 2008 e 2013. Em 2010 foram observados os maiores níveis de gordura e sólidos totais, e nos anos de 2011 e 2012 não apresentaram diferenças entre si, sendo superiores aos anos anteriores. O maior percentual de gordura e sólidos totais ocorreu em 2013. A proteína apresentou tendência de aumento entre 2008 e 2013. O percentual de lactose foi maior em 2013. Nos anos de 2010, 2011 e 2012 não houve diferença nos percentuais de lactose e 2008 e 2009 apresentaram os menores percentuais, respectivamente.

O aumento da produtividade e da composição química pode ser explicado pela relação preço do leite e custo dos fatores de produção. O valor praticado na compra do leite cru no período foi historicamente maior quando comparado ao custo de produção, tornando atrativos os investimentos que melhoraram o desempenho produtivo das vacas (Montoya et al., 2014). Comparando os achados de Noro et al. (2006) com as médias deste estudo, a produção de leite apresentou crescimento de 24,07% e a constituição proteica 2,5%, enquanto a gordura e lactose apresentaram queda de 3,38% e 0,66% respectivamente. Portanto, o aumento dos componentes do leite não reflete melhorias contínuas nos últimos anos, pois os achados de Noro et al. (2006) apresentam leite com qualidade composicional superior aos encontrados neste estudo. O aumento na produtividade é consequência de um planejamento estratégico onde o controle leiteiro é indispensável para a condução de manejos racionais nos rebanhos, porém é necessário que o controle leiteiro também seja utilizado para melhorias na qualidade do leite e não somente para aumento da produção e isto só será alcançado com a conscientização de produtores e indústrias (Dürr et al. 2011).

O comportamento estacional da produção e composição do leite está apresentado na Tabela 2. A produção de leite foi maior no inverno, decrescendo progressivamente na primavera, outono e verão. A gordura foi maior no outono seguido pelo inverno, primavera e verão. A proteína foi maior no inverno e outono, decrescendo no verão e primavera, respectivamente. O ECS foi maior no verão e outono seguido pelo inverno, os menores ECS foram encontrados na primavera. A concentração de lactose apresentou a mesma tendência que a produção

de leite entre as estações do ano, sendo maior no inverno, decrescendo progressivamente na primavera, outono e verão.

Tabela 2. Médias (\pm desvio padrão) de produção, composição química e escore de células somáticas (ECS) nas diferentes estações do ano, entre

Estação do ano	Produção (L/vaca/dia)	Gordura (%)	Proteína (%)	Lactose (%)	Sólidos totais (%)	ECS[#]
Inverno	27,3 \pm 9,16 ^a	3,48 \pm 0,69 ^b	3,27 \pm 0,36 ^a	4,48 \pm 0,25 ^a	12,2 \pm 0,98 ^a	5,20 \pm 1,71 ^b
Primavera	25,8 \pm 8,68 ^b	3,40 \pm 0,66 ^c	3,17 \pm 0,36 ^c	4,46 \pm 0,25 ^b	12,0 \pm 0,98 ^b	5,16 \pm 1,78 ^c
Verão	24,2 \pm 7,8 ^d	3,37 \pm 0,65 ^d	3,18 \pm 0,35 ^b	4,42 \pm 0,25 ^d	11,9 \pm 0,95 ^c	5,27 \pm 1,78 ^a
Outono	24,4 \pm 8,48 ^c	3,53 \pm 0,68 ^a	3,28 \pm 0,88 ^a	4,43 \pm 0,26 ^c	12,2 \pm 0,98 ^a	5,26 \pm 1,69 ^a

[#]ECS= logaritmo da CCS. Letras diferentes indicam diferenças entre linhas (estações).

O aumento da produção e da lactose durante o inverno seguido pela primavera corrobora com os achados de Noro et al. (2006), quem atribuíram este aumento à melhor qualidade das pastagens nestas estações do ano. Broderick (2003) observou que o aumento na porcentagem de lactose do leite aumenta com maior valor energético da dieta. As forragens temperadas no final do outono, inverno e início da primavera no Rio Grande do Sul, têm menor fibra em detergente neutro (FDN) e maior concentração de carboidratos solúveis quando comparadas as forrageiras tropicais, influenciando no desempenho produtivo dos animais (Fontaneli et al., 2009). Os maiores percentuais de gordura e proteína ocorreram no outono e inverno. Contudo, no outono, diferente do inverno, observou-se a menor produção de leite, embora os níveis de sólidos não diferissem dos encontrados no inverno. Uma diminuição no volume de leite pode trazer como consequência aumento nos teores de sólidos, principalmente gordura e proteína, devido ao efeito concentrador do leite (Weiss et al., 2002). Não restam dúvidas que

as forrageiras temperadas, fornecem melhor equilíbrio nutricional o que explica em partes a maior produção e as maiores proporções de gordura, proteína, lactose e sólidos totais no inverno. Heck et al. (2009) estudaram as variações da composição do leite de vacas na Holanda e atribuíram parte das variações dos componentes químicos a fatores sazonais. Assim como no Rio Grande do Sul, a gordura apresentou a maior variação seguida pela proteína. A lactose foi o componente que apresentou menor variação. A explicação de Heck et al. (2009) para a diminuição dos níveis de gordura está no pastejo de forragens frescas que concentram ácidos graxos insaturados trans. Os ácidos graxos trans interfere na ação enzimática da Δ^9 -desaturase, responsável pela síntese de ácidos graxos de cadeia curta e média na glândula mamária que contribuem para a síntese do novo. As condições de conforto térmico também interferem na produção e composição do leite. Lambertz et al. (2013) concluíram que vacas no verão, com estresse térmico, diminuem produção e composição de gordura e proteína e aumento no ECS, corroborando com os resultados encontrados neste estudo onde o outono e verão apresentaram os maiores ECS.

A Tabela 3 apresenta as variações entre as etapas da lactação. As vacas em início da lactação (6 a 60 DEL) apresentaram as maiores produções de leite, ocorrendo diminuição conforme o avanço da lactação. O maior percentual de gordura foi observado em vacas com mais de 220 DEL, e o menor percentual foi observado no período de 6 a 60 e 61 a 120 DEL, sem diferenças entre eles. O conteúdo de proteína láctea aumentou à medida que a lactação avançou, com maiores valores nas vacas com mais de 200 DEL, e menores nas vacas entre 61 a 120

DEL. O cociente G:P aumentou progressivamente com o avanço da lactação. O cociente gordura:proteína (G:P) tem sido usada como indicador de lipomobilização em vacas com balanço energético negativo (BEN). Considerando que o aumento de ácidos graxos livres, originados do tecido adiposo, contribuem com o aumento do teor de gordura láctea é sugerido que valores de G:P superiores a 1,25 em vacas de até 60 DEL sejam indicativos de BEN moderado (De Roos et al., 2007). No presente trabalho, a G:P para vacas entre 6 a 60 DEL foi de $1,11 \pm 0,22$, sendo que 25,72% apresentaram cociente $\geq 1,25$. Cucunubo et al. (2013) e Duffield et al. (1997) encontraram baixa especificidade e sensibilidade na utilização do coeficientes de G:P de 1,25 como indicador de BEN e/ou cetose. Quando o cociente é ajustado para $\geq 1,50$, conferindo maior especificidade e sensibilidade, o percentual de vacas com BEN e/ou cetose foi de 5,15% neste estudo.

Tabela 3. Médias (\pm desvio padrão) de produção, composição química, escore de células somáticas (ECS) e cociente entre G:P em diferentes estádios de lactação ordenhadas entre janeiro de 2008 a dezembro de 2013 no Rio Grande do Sul

Dias em lactação	Produção (L/vaca/dia)	Gordura (%)	Proteína (%)	G:P*	Lactose (%)	Sólidos totais (%)	ECS [#]
6 a 60	29,4 \pm 8,72 ^a	3,40 \pm 0,65 ^b	3,05 \pm 0,36 ^c	1,11 \pm 0,22 ^a	4,50 \pm 0,23 ^b	11,9 \pm 0,93 ^c	4,79 \pm 1,90 ^d
61 a 120	29,2 \pm 8,66 ^b	3,30 \pm 0,66 ^c	3,03 \pm 0,31 ^d	1,09 \pm 0,21 ^b	4,51 \pm 0,23 ^a	11,8 \pm 0,92 ^d	4,89 \pm 1,90 ^c
121 a 220	26,2 \pm 8,01 ^c	3,40 \pm 0,66 ^b	3,18 \pm 0,32 ^b	1,07 \pm 0,19 ^c	4,45 \pm 0,24 ^c	12,0 \pm 0,94 ^b	5,21 \pm 1,75 ^b
> a 220	22,0 \pm 7,49 ^d	3,55 \pm 0,67 ^a	3,41 \pm 0,36 ^a	1,04 \pm 0,18 ^d	4,40 \pm 0,27 ^d	12,4 \pm 0,99 ^a	5,53 \pm 1,53 ^a

[#] ECS= logaritmo da CCS. Letras diferentes indicam diferenças entre linhas (dias em lactação). * G:P= cociente gordura:proteína.

O número de lactações influenciou a produção de leite (Tabela 4), de forma que vacas com duas e três lactações tiveram as maiores produções, seguidas pelas vacas com quatro ou mais lactações. A

expressão máxima da produção leiteira de uma vaca ocorre quando ela atinge o completo desenvolvimento da glândula mamária, o que ocorre na terceira lactação das vacas Holandesas (Schutz et al., 1990).

Tabela 4. Médias de produção (\pm desvio padrão), composição química, ECS e cociente entre G:P, distribuídas conforme o número de lactações ordenhadas entre janeiro de 2008 a dezembro de 2013 no Rio Grande do Sul

Número de partos	Produção (L/vaca/dia)	Gordura (%)	Proteína (%)	G:P*	Lactose (%)	Sólidos totais (%)	ECS [#]
1	23,9 \pm 7,72 ^c	3,47 \pm 0,67 ^a	3,24 \pm 0,37 ^a	1,08 \pm 0,19 ^a	4,54 \pm 0,23 ^a	12,2 \pm 0,97 ^a	4,83 \pm 1,73 ^c
2-3	26,9 \pm 9,09 ^a	3,43 \pm 0,68 ^b	3,23 \pm 0,38 ^b	1,07 \pm 0,20 ^c	4,43 \pm 0,24 ^b	12,1 \pm 0,98 ^b	5,31 \pm 1,72 ^b
≥ 4	26,1 \pm 8,86 ^b	3,41 \pm 0,67 ^c	3,19 \pm 0,37 ^c	1,07 \pm 0,20 ^b	4,32 \pm 0,26 ^c	11,9 \pm 0,97 ^c	5,84 \pm 1,62 ^a

[#] ECS= logaritmo da CCS. Letras diferentes indicam diferenças entre linhas (número de partos). * G:P= cociente gordura:proteína

As vacas de primeira lactação apresentaram as menores produções e as maiores concentrações de gordura, proteína, lactose e sólidos totais, resultados semelhantes aos encontrados por Cunha et al. (2008). Este aumento pode ser atribuído ao menor ECS nas vacas de primeira lactação e conseqüentemente menor dano às células produtoras de leite e a menor produtividade quando comparado às multíparas, causando efeito concentrador no leite (Auldish e Hubble, 1998; Weiss et al., 2002). Gordura, proteína, lactose e sólidos totais diminuiriam conforme aumentou o número de lactações. O ECS também aumentou conforme aumentou o número de lactações. Schultz (1977) atribui o aumento do ECS ao maior número de partos que como conseqüência causa perda de células epiteliais secretoras, diminuindo os componentes do leite. O cociente G:P foi maior em vacas de primeira lactação seguido pelas vacas com mais de quatro lactações e duas e três lactações

respectivamente sugerindo que as vacas de primeira lactação estão mais predispostas a ocorrência de transtornos metabólicos.

A Tabela 5 apresenta resultados de correlação onde a produção de leite correlacionou-se positivamente com os percentuais de lactose e o número de partos. Segundo Larson (1995), a lactose aumenta a osmolaridade do leite e conseqüentemente a absorção de água para o alvéolo, aumentando a produção. O aumento do ECS no leite teve impacto negativo sobre a produção de leite, percentual de lactose e o cociente G:P. Hagnestam-Nielsen et al. (2009) encontraram diminuição da produção de leite em vacas primíparas e múltíparas com elevada contagem de células somática (CCS). As perdas foram estimadas em 1,9 e 5,2% para vacas primíparas e múltíparas, respectivamente. Os mesmos autores encontraram as maiores perdas de produção leiteira conforme avançou a lactação, sendo os coeficientes de regressão mais negativos entre as semanas 33-44 independentemente do número de partos. Esses achados estão de acordo com os resultados encontrados neste estudo, observando-se que à medida que avança a lactação e o número de partos, maior é o valor de ECS e menor a produção de leite. A diminuição dos níveis de lactose em vacas com elevado ECS também foi observado por Prada e Silva et al. (2000), atribuindo 34% das perdas de lactose como sendo causadas pela CCS.

Tabela 5. Correlações entre os dias em lactação (DEL), número de partos, produção e composição láctea

	DEL	n° de partos	Produção	Gordura	Proteína	G:P ^{###}	Lactose	Sólidos totais
Produção	-0,341**	0,121**						
Gordura	0,125**	-0,038**	-0,226**					
Proteína	0,394**	-0,041**	-0,396**	0,400**				
G:P	-0,121**	-0,013**	0,012**					
Lactose	-0,164**	-0,308**	0,200**	-0,042**	-0,085**	0,006*		
Sólidos totais								
	0,220**	-0,131**	-0,279**	0,879**	0,700**	0,486**	0,208**	
ECS [#]	0,165**	0,214**	-0,158**	0,076**	0,174**	-0,028**	-0,429**	0,016**

**Correlação significativa em nível de 0,01. *Correlação significativa em nível de 0,05. [#] Logaritmo da CCS.

^{###} G:P= cociente gordura:proteína.

O ECS teve correlação positiva com os teores de gordura, proteína e sólidos, e com os dias em lactação e número de partos, ao tempo que teve correlação negativa com a produção de leite. Shutz et al (1990) e Cunha et al (2008) observaram correlações positivas entre o ECS e os percentuais de gordura e proteína. Similarmente, Miller et al. (1983) analisando leite individualizado por vaca e Mitchell et al. (1986) com leite de tanque de expansão, verificaram um aumento da porcentagem de gordura no leite com alta CCS. Segundo Auldish e Hubble (1998), não há consenso na literatura em relação ao aumento da porcentagem de proteína total no leite de animais com alta CCS. Kitchen (1981) e Munro et al. (1984) descrevem que o aumento da concentração de proteínas séricas no leite de vacas com mastite subclínica pode ser atribuído ao aumento na permeabilidade vascular em consequência do processo inflamatório. Em nosso estudo a correlação entre ECS e lactose foi de -0,429 (P< 0,01). Noro et al. (2006) no Rio Grande do Sul e Cunha et al. (2008) em Minas Gerais encontraram as mesmas influencias do ECS

sobre a produção e composição do leite, indicando tratar-se de um problema persistente que afeta a produção e qualidade do leite.

Conclusão

A produtividade e composição do leite das fazendas que utilizam controle leiteiro no norte e nordeste do Rio Grande do Sul têm melhorado nos últimos anos. É possível observar o efeito da sazonalidade, onde no período de inverno ocorrem os maiores volumes de leite e de sólidos totais. Vacas no início da lactação (6 a 60 DEL) e aquelas com dois e três partos foram as mais produtivas. O maior desafio a ser vencido é a diminuição da contagem de células somáticas que se correlacionaram negativamente com a produção e o percentual de lactose.

Referências

- Auldish, M. J., Hubble, I. B. 1998. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. *Australian Journal of Dairy Technology* 53, 28-36.
- Bachman, K.C. 1992. Managing milk composition. In: Van Horn, H., Wilcox, C. Large dairy herd management. Champaign: Dairy Science Association American, Dairy Science Association. p. 336346.
- Barbano, D.M. 1990. Seasonal and regional variation in milk composition in the US. In: Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers, Ithaca.
- Bauman, D.E.; Griinari, J. K. 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annual Review of Nutrition* 23, 203-227.
- Broderick, G.A. 2003. Effects of varying protein and energy level on the production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 86, 1370-1381.
- Beckett, S.; Lean, I.; Dyson, N.R. et al. 1998. Effects of monensin on the reproduction, health, and milk production of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 81, 1563-1573.
- Carvalho, G.F. et al. 2002. Milk yield, somatic cell count and physico-chemical characteristics of raw milk collected from dairy cows in Minas Gerais State. In: Congresso Panamericano de Qualidade do Leite e Controle da Mastite, Ribeirão Preto. Anais. FEPALE, 1 CD-ROM.
- Cucunubo, L.G.; Strieder, C.; Wittwer, F.; Noro, M. 2013. Diagnóstico de cetosis subclínica y balance energético negativo en vacas lecheras mediante el uso de muestras de sangre, orina y leche. *Revista Científica FCV-LUZ* 23, 111-119.
- Cunha, R.P.; Molina, L.R.; Carvalho, A.U. et al. 2008. Mastite subclínica e relação da contagem de células somáticas com número de lactações, produção e composição química do leite em vacas da raça Holandesa. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 60, 19-24.

- De Peters, E. J.; Cant, J. P. 1992. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: a review. *Journal of Dairy Science* 75, 2043-2070.
- De Roos, A.P.; Van Der Bijgaart, H.J.; Horlyk, J.; De Long, G. 2007. Screening for subclinical ketosis in dairy cattle by Fourier transform infrared spectrometry. *Journal of Dairy Science* 90, 1761-1766.
- Duffield, T.F.; Kelton, D.F.; Leslie, K.E. et al. 1997. Use of test day milk fat and milk protein to detect subclinical ketosis in dairy cattle in Ontario. *Canadian Veterinary Journal* 38, 713-718.
- Dürr, J.W., Fontanelli, R.S., Burchard, J. F. 2000. Fatores que afetam a composição do leite. In: *Cursos de sistemas de produção para gado leiteiro baseado em pastagens sob plantio direto*. Passo Fundo. Anais... Embrapa-Trigo.
- Dürr, J.W. 2004. Programa nacional de melhoria da qualidade do leite: uma oportunidade única. In: Dürr J.W.; Carvalho M.P.; Santos, M.V. (eds.). *O compromisso com a qualidade do leite no Brasil*. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, p. 38-55.
- Dürr, J.W.; Ribas, N.P.; Costa, C.N.; Horst, J.A.; Bondan, C. 2011. Milk recording as an indispensable procedure to assure milk quality. *Revista Brasileira de Zootecnia* 40, 76-81.
- Fonseca, L.F.; Santos, M. V. 2000. Qualidade do leite e controle de mastite. São Paulo: Lemos Editorial, p.39-141.
- Gonzalez, F.H.D. 2001. Composição do leite e hormônios da lactação. In: *Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Gonzalez, F.H.D.; Campos, R. 2003. O leite como indicador metabólico-nutricional em vacas. *A Hora Veterinária* 22, 36-38.
- Gonzalez, F.H.D., Noro, G. 2011. Variação na composição do leite no subtropical brasileiro. In: *Qualidade do leite bovino: variações no trópico e subtropical*. UPF Editora, Passo Fundo.

- Gonzalez, F.H.D., Silva, S.C. 2006. Introdução a bioquímica clínica. 2ª edição, Editora da UFRGS, Porto Alegre, 364 p.
- Griinari, J.M.; Dwyer, D.A.; McGuire, M.A. et al. 1998. Trans-octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 81, 1251-1261.
- Hagnestam-Nielsen, C.; Emanuelson, U.; Berglund, B.; Strandberg, E. 2009. Relationship between somatic cell count and milk yield in different stages of lactation. *Journal of Dairy Science* 92, 31243133.
- Heck, J.M.; Van Valenberg, H.J.; Dijkstra, J.; Van Hooijdonk, A.C. 2009. Seasonal variation in the Dutch bovine raw milk composition. *Journal of Dairy Science* 92, 4745-4755.
- Hurley, W.L. 2004. Nutritional factors affecting milk yield and composition. University of Illinois. Disponível em: www.classes.aces.uiuz.edu/ansci308/factorsnutritional.html Acessado em: 15 de maio de 2004.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). 2013. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em: 22 jun 2013.
- Kitchen, B.J. 1981. Review of the progress of dairy science: bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. *Journal of Dairy Research* 48, 167-188.
- Lamberts, C.; Sanker, C.; Gauly, M. 2014. Climatic effects on milk production traits and somatic cell score in lactating Holstein-Friesian cows in different housing systems. *Journal of Dairy Science* 97, 319-329.
- Larson, B.L. 1995. Biosynthesis and cellular secretion of milk. In: Larson, B.L. (ed). *Lactation*. Ames: Iowa State University Press. p. 129-163.
- Marques, L.T., Balbinotti, M.; Fischer, V. 2002. Variação da composição química do leite de acordo com a contagem de células somáticas. In: Congresso Pan-americano de Qualidade do Leite e Controle da Mastite, 2, 2002, Ribeirão Preto. Anais...FEPALE, 1 CD ROM.

- Miller, R.H.; Emanuelsson, U.; Persson, E. et al. 1983. Relationships of milk somatic cell counts to daily milk yield and composition. *Acta Agriculturae Scandinavica* 33, 209-223.
- Mitchell, G.E.; Rogers, S.A.; Houlihan, D.B. 1986. The relationship between somatic cell count, composition and manufacturing properties of bulk milk. 2. Composition of farm bulk milk. *Australian Journal of Dairy Technology* 41, 9-12.
- Monardes, H. 1998. Programa de pagamento de leite por qualidade em Quebec, Canadá. In: Simpósio Internacional sobre Qualidade do Leite, 1., 1998, Curitiba. Anais... Curitiba: Universidade Federal do Paraná, p.40-43.
- Montoya, M.A.; Pasqual, C.A.; Finamore, E.B. 2014. Panorama da produção leiteira no Rio Grande do Sul: perspectivas e gestão nas propriedades no Corede Produção. In: Fontes de crescimento da produção de leite: um enfoque no Corede. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, p. 25-38.
- Munro, G.L.; Grieve, P.A.; Kitchen, B.J. 1984. Effects of mastitis on milk yield, milk composition, processing properties and yield and quality of milk products. *Australian Journal of Dairy Technology* 39, p. 7-16.
- Noro, G.; Gonzalez, F.H.D.; Campos, R.; Dürr, J.W. 2006. Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Zootecnia* 35, 1129-1135.
- Mühlbach, P.R. 2003. Nutrição da vaca em lactação e a qualidade do leite. In: Simpósio de Bovinocultura de Leite, Chapecó. Sociedade Catarinense de Médicos Veterinários – Núcleo Oeste. Disponível em: <http://www.nucleovet.com.br/simposio.htm>.
- Murphy, J.J.; O'Mara, F. 1993. Nutritional manipulation of milk protein concentration and its impact on dairy industry. *Livestock Production Science* 35, 117-134.
- National Research Council (NRC). 2001. Nutrient requirement of dairy cattle. Washington DC: National Academy Press.

- Palmquist, D.L. et al. 1993. Adsa foundation symposium: milk fat synthesis and modification. *Journal of Dairy Science* 76, 1753-1771.
- Philpot, W.N. 1998. Importância da contagem de células somáticas e outros fatores que afetam a qualidade do leite. In: *Simpósio Internacional sobre Qualidade do Leite, 1.*, Curitiba. Anais, UFPR, p. 28-35.
- Prada e Silva, L.F.; Pereira, A.R.; Machado, P.F., Sarriés, G.A. 2000. Effects of somatic cell levels on milk components II-lactose and total solids. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 37, 330-333.
- Ribas, N.P.; Almeida, R.; Marcondes, E.A. 1999. Estudo de alguns fatores de meio sobre as produções de leite, gordura e proteína em vacas da raça Jersey no Estado do Paraná. In: *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 36*, Porto Alegre. Anais... Porto Alegre: SBZ, 1999 p.159.
- Ribas, N.P. et al. 2001. Produção diária de leite, porcentagens de gordura e proteína em vacas da raça Holandesa no Estado do Paraná. *Revista Batavo* 8, 26-33.
- Ribas, N. P.; Hartmann, W.; Monardes, H.G.; Andrade, U.V. 2004. Sólidos totais do leite em amostras de tanque nos estados do Paraná, Santa Catarina e São Paulo. *Revista Brasileira de Zootecnia* 33, 2343-2350.
- Brito, J.R.F.; Portugal, J.A.B. 2003. Panorama da qualidade do leite na região Sudeste: Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. In: *Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos*. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, p.47-62.
- Schutz, M.M.; Hansen, L.B.; Steuernagel, G. R. 1990. Variation of milk, fat, protein and somatic cells for dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 73, 484-493.
- Sutton, J.D. 1989. Altering milk composition by feeding. *Journal of Dairy Science* 72, 2801-2814.

Weiss, D.; Hilger, M.; Meyer, H.H.; Bruckmaier, R.M. 2002. Variable milking intervals and milk composition. *Milchwissenschaft* 57, 246-249.

Acidose ruminal subaguda: Monitoramento e prevenção nos rebanhos leiteiros⁴

Mirela Noro

Universidade Federal do Pampa

Giovani Noro

DSM - Tortuga

Introdução

O rúmen é o compartimento anatômico do trato gastrointestinal responsável pelo processo digestivo fermentativo, nos ruminantes. Nele os processos bioquímicos fermentativos são realizados por uma ampla variedade de microrganismos, como protozoários, fungos, e especialmente as bactérias. As enzimas presentes na parede e citoplasma bacteriano, assim como aquelas liberadas no fluido ruminal, são as principais responsáveis pelos processos fermentativos, dos quais são originados substratos energéticos, nitrogenados e algumas vitaminas, que serão utilizados como nutrientes pelo hospedeiro. Desta forma, os microrganismos ruminais vivem em simbiose com a vaca leiteira, possibilitando a degradação de substratos que não poderiam ser degradados por mamíferos não-ruminantes. Dos processos fermentativos

⁴ Noro, M., Noro, G. 2015. Acidose ruminal subaguda: Monitoramento e prevenção nos rebanhos leiteiros. II Simpósio Nacional da Vaca Leiteira. Anais. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 94-121.

ruminais são produzidas substâncias que baixam o pH ruminal (caráter ácido), como os ácidos graxos voláteis (acetato, butirato, propionato, entre outros) e ácido láctico; e substâncias alcalinas como os compostos nitrogenados (ex. amônia $[NH_4]$). Quando o pH do rúmen se acidifica ($pH < 5,8$) ocorrem alterações nos processos fermentativos, e quando os valores baixam de $pH < 5,5$ ocorrem alterações não somente no ambiente intrarruminal, como também na sua parede, assim como alterações sistêmicas, que culminam no quadro de acidose ruminal subaguda (SARA). Este transtorno afeta uma alta porcentagem de vacas nos sistemas produtivos leiteiros e ocasiona perdas produtivas e de saúde animal, motivo pelo qual abordaremos as generalidades deste transtorno, seu impacto nos sistemas produtivos leiteiros, assim como o seu monitoramento e prevenção a nível populacional.

O que é o pH ruminal e como ele varia ao longo do dia na vaca leiteira

O pH, denominado potencial de hidrogênio, é a expressão para determinar concentração de hidrogênio $[H^+]$ numa solução. Seus valores variam entre 0 a 14, sendo o valor pH 7,0 o ponto neutro. À medida que o pH fica com valores inferiores a 7,0 ele tende a acidificação e com valores maiores a 7,0 tende a alcalinização. O pH pode ser calculado pela fórmula: $pH = -\log [H^+]$. Como sua fórmula considera o logaritmo negativo na base 10 (\log_{10}), os valores altos de pH indicam que na solução temos poucas moléculas de H^+ e com valores baixos pH temos muitas moléculas de H^+ . Como exemplo, quando no rúmen o valor de

pH diminui em 1,0 ponto (ex. pH 7,0 quando diminui a pH 6,0), temos 10 vezes mais H^+ , e quando diminuimos 2,0 pontos (ex. pH 7,0 para pH 5,0) temos um aumento de 100 vezes na concentração de H^+ . Assim podemos inferir que uma leve mudança no pH ruminal está associada a aumentos consideráveis na concentração de H^+ no rúmen.

Diversos estudos têm proposto valores considerados “fisiológicos” para o pH ruminal, porém mais que um valor em si o mais relevante é a estabilidade do pH ruminal ao longo do tempo. Um rúmen saudável deve ter um pH > 5,8 até 7,0. Valores maiores que 7,0 seriam de alcalose ruminal e menores a 5,6 de acidose ruminal. Valores de pH menores ou iguais a 5,8 afetam a fermentação das bactérias celulolíticas, as quais trabalham eficazmente entre pH 6,2 a 6,8. Deste modo, mesmo com valores de pH sendo considerados fisiológicos teríamos perdas produtivas nas vacas por uma redução na fermentação da fibra dietética. Por outro lado, o pH ruminal varia ao longo do dia associado ao comportamento ingestivo dos ruminantes, composição e manejo dietéticos; e nas vacas a pastoreio associado às variações diárias na composição da pastagem. Nos sistemas de produção em base a ração totalmente misturada (TMR) observa-se uma redução nos valores de pH ruminal entre 3 a 4 horas após a ingestão da ração, entretanto devido a que as vacas apresentam um comportamento ingestivo diurno, existe uma tendência a que os valores de pH ruminal descendam com o transcurso do dia. Portanto, encontraremos valores tendendo a neutralidade (pH 6,5-7,0) durante a madrugada e período matutino, associado ao maior tempo de ruminação noturna; e tendendo a acidificação (pH < 6,2) durante o período vespertino e anoitecer,

associado as maiores taxas fermentativas pelo maior consumo de alimento (Figura 1).

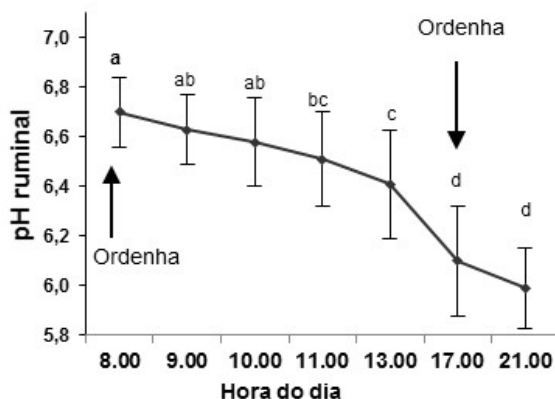


Figura 1. Variação (X ± DP) do pH ruminal ao longo do dia em vacas a pastoreio de azevém perene (PB: 18,3% MS, EM: 2,7 Mcal/kg MS). Adaptado de Scandolo et al., 2007 (Contreras & Noro, 2010)

O que é a acidose ruminal subaguda

A acidose ruminal subaguda (SARA) é um transtorno digestivo subclínico ou inaparente associado ao consumo de concentrados energéticos, alimentos altamente fermentáveis, ou com baixa capacidade tampão (buffer). Está caracterizada por pH ruminal ácido ($\leq 5,5$), que impacta negativamente na produção e saúde das vacas. Apresenta uma alta prevalência nos sistemas de produção leiteira onde as vacas são suplementadas com alta proporção de concentrados e baixa fibra efetiva (eF). Afeta principalmente as vacas de alta produção no início da

lactação, onde as papilas ruminais não se desenvolveram completamente, e no pico do consumo de alimento, associada às altas taxas fermentativas. Também afeta rebanhos onde ocorreram mudanças de uma dieta com baixa densidade energética para uma com alta densidade e baixa eF. Tradicionalmente a SARA era reconhecida por afetar a rebanhos estabulados em sistema de dieta com alto concentrado. Porém, a SARA tem sido diagnosticada com alta incidência em rebanhos pastoris de diversas partes do mundo, associada ao consumo de pastagens com baixo conteúdo de eF e/ou alto conteúdo de carboidratos solúveis, como observado em gramíneas temperadas. Por este motivo, nos sistemas produtivos leiteiros do sul do Brasil, durante o período de inverno e primavera onde aumenta o uso dos sistemas pastoris, a prevalência de SARA pode ser elevada, associada ao uso de pastagens de aveia e azevém. Também tem sido observada grande incidência de SARA em rebanhos em pastagens tropicais, quando há suplementação de grandes quantidades de concentrado (acima de 0,5% PV por refeição), principalmente em período onde os animais estão sob stress calórico.

Ainda não existe um consenso respeito aos valores de pH ruminal para diagnosticar SARA. Alguns pesquisadores diagnosticam SARA quando os valores de pH ruminal são $< 5,5$ durante 4 ou mais horas por dia. Outros diagnosticam SARA quando o pH ruminal está abaixo de 5,6 pelo menos por 3 horas ao dia. Enquanto outros são mais extremistas e consideram SARA quando os valores de pH ruminal se encontram menores a 6,0 por mais de 4 horas ao longo do dia, situação que inclui os animais com média de pH ruminal ao longo do dia maiores a 6,25. Tomando por base a maioria dos estudos no tema, consideraremos

SARA quando os valores de pH ruminal encontrarem-se entre 5,0 a 5,5. Valores de pH entre $> 5,5$ a $5,8$ serão considerados marginais, e o pH “fisiológico” será considerado $> 5,8$ até $7,0$. Valores $> 7,0$ são considerados alcalinos, e podem ser observados em animais em jejum ou anorexia. Os valores de pH ruminal $< 5,0$ são observados nos quadros clínicos de acidose aguda ou hiperaguda conhecida como acidose láctica ruminal. Por ser um quadro subclínico, a SARA é subdiagnosticada. Em rebanhos afetados por SARA podem observar-se quadros de acidose crônica, os quais estão associados ao excessivo consumo de carboidratos por um longo período de tempo, normalmente com adequada quantidade de eF, sendo assim uma forma de acidose subaguda persistente. Neste quadro a população de bactérias celulolíticas diminui e grandes quantidades de microrganismos utilizadores e produtores de lactato são encontrados. Na acidose crônica a grande quantidade de ácidos produzidos no rúmen estimula a proliferação das papilas ruminais, podendo resultar em paraqueratose, hiporexia e hipomotilidade ruminal. A sobrecarga ácida persistente pode reduzir a eficiência metabólica e o desempenho geral do animal. Outros achados no rebanho são a alta prevalência de laminite e eventualmente polioencefalomalacia. Os fatores de risco para SARA estão associados a fatores que alteram o padrão de fermentação ruminal como a dieta (quantidade e tipo de carboidratos não fibrosos; quantidade e tipo de fibra, tamanho de partícula, seleção da dieta), manejo dietético (tipo e frequência de alimentação), o ambiente (conforto, temperatura e umidade ambiental), assim como fatores que afetem a absorção dos ácidos graxos voláteis

(AGVs). Alguns destes fatores de risco serão abordados no capítulo de monitoramento para prevenção de SARA.

A acidificação do rúmen resulta de três processos que podem ou não esta integrados: (1) Efeito químico/microbiológico, pelo alto consumo de carboidratos altamente fermentáveis, alta taxa fermentativa e aumento de AGVs no rúmen; (2) Efeito físico/químico, pela baixa ingestão de eF, com baixa taxa de ruminação, que baixa a capacidade tampão proveniente dos fosfatos e bicarbonatos da saliva; e (3) Efeito físico pela baixa capacidade de absorção dos AGVs pelas papilas ruminais em vacas não adaptadas a dieta com alta densidade energética. Na forma clássica a SARA ocorre quando no rúmen, o amido e os açúcares da dieta sofrem uma rápida fermentação, sem uma adequada capacidade tampão, aumentando a taxa de crescimento das bactérias amilolíticas em relação às celulolíticas. Conseqüentemente aumenta a produção dos AGVs, diminuindo o pH ruminal. Na fase inicial da fermentação, aumenta a produção do ácido propiônico (de 20% para aproximadamente 40%), e diminui a do ácido acético associado à redução da degradação da fibra quando o pH baixa de 5,8. Nos quadros de SARA e de acidose crônica, as proporções dos ácidos propiônico e butírico aumentam e as de acético diminuem. É assim que no rúmen saudável a relação acetato:propionato é de aproximadamente 2,2:1. Quando os valores de pH ruminal seguem baixando pela maior produção de ácidos e disponibilidade de carboidratos, o *Streptococcus bovis* cresce exponencialmente convertendo o amido e a glicose em ácido láctico e outros ácidos orgânicos, como valérico, fórmico e succínico. Este aumento dos ácidos acidifica o pH ruminal a aproximadamente 5,4 que

por si leva a uma anorexia, diminui o crescimento e ocasiona a morte das bactérias lactolíticas que transformam o ácido láctico em propiônico, assim como de outras populações microbianas. Com a morte das bactérias ruminais, que na sua maioria são Gram-negativas, ocorre liberação de uma grande quantidade de endotoxinas lipopolissacarídicas da parede celular ao ambiente ruminal. Estas endotoxinas quando absorvidas produzem alterações hemodinâmicas e inflamatórias sistêmicas no animal. A progressiva acidificação do rúmen, especialmente associada ao aumento dos AGVs, leva a hipotonia ruminal, sendo o butirato o principal responsável por este efeito, e quando o pH atinge valores próximos a 5,0 ocorre uma atonia ruminal. Quando o ácido láctico produzido pelo *S. bovis* acumula-se no rúmen, ocorre uma redução do pH ruminal a valores inferiores a 5,0, com substituição da população de *S. bovis* por *Lactobacillus*, que são mais resistentes a pH ácidos, caracterizando uma acidose láctica ruminal, transtorno clínico que não será discutido neste trabalho. A hipomotilidade ruminal leva a uma diminuição da ruminação, e menor produção de saliva, impedindo o efeito tampão. Por outro lado, quando ocorre dissociação dos ácidos produzidos no rúmen, incrementa a osmolaridade ruminal e intestinal a valores maiores que a do sangue (\cong 300 mOsm), o que se traduz em efeito osmótico com passagem de água do sangue para o rúmen e intestino, gerando fezes desde mais fluidas até diarreicas.

Sinais e impacto da SARA no sistema produtivo

A SARA impacta negativamente no rebanho por afetar aspectos produtivos e de saúde. Em nível de rebanho a visualização de alguns achados como: (1) taxa de descarte anual maior a 30% ($> 8\%$ nos 60 dias pós-parto); (2) incidência de deslocamento de abomaso maior a 3%; (3) baixo consumo de matéria seca no pós-parto; (4) escore de fezes heterogêneo entre vacas; e (5) gordura láctea menor a 3,5%, sugerem alta prevalência de SARA. A seguir citaremos alguns dos impactos da SARA no sistema produtivo.

Degradação da dieta

A acidificação ruminal ($< 5,8$) diminui a digestão da fibra e da proteína ruminal, por detrimento das bactérias celulolíticas e proteolíticas. Como resultado ocorre perda de fibra nas fezes e aumento de aporte de proteína passante, que pode ser absorvida a nível intestinal, porém em detrimento da síntese de proteína microbiana.

Síndrome da baixa gordura láctea

Ocorre associada à diminuição da bio-hidrogenação de ácidos graxos insaturados presentes na digesta e da síntese de acetato ruminal. A redução da bio-hidrogenação aumenta porcentualmente os ácidos graxos *trans* no sangue, inibindo a síntese da gordura láctea. Muito comum onde dieta contém adição de óleos, principalmente de soja, monensina e baixa eF.

Rumenite e paraqueratose

A exposição prolongada do epitélio ruminal ao baixo pH provoca rumenite, atrofia e necrose das papilas ruminais e eventualmente hiperparaqueratose, impactando negativamente na absorção dos AGVs. Além dos ácidos orgânicos produzidos no rúmen, vários outros fatores tóxicos (histamina, tiramina, etanol e endotoxinas) podem contribuir para a apresentação desta afecção. Por outro lado, a rumenite é uma via de ingresso de bactérias e fungos para a corrente circulatória.

Abscessos sistêmicos

Quando a mucosa ruminal perde sua integridade, também perde sua capacidade de atuar como barreira entre o ambiente ruminal e o sangue. Isto permite que bactérias patogênicas como *Fusobacterium necrophorum* penetrem no epitélio ruminal e, através da veia porta, colonizem outros órgãos. Estas bactérias podem causar abscessos hepáticos, e em alguns casos provocar peritonite localizada. Posteriormente, os abscessos podem ocorrer em outros órgãos como pulmões, coração, rins, pele ou articulações.

Laminite

Nos quadros de acidose ruminal as bactérias que normalmente utilizam a histidina, estão inibidas ou morrem. Nestes casos a *Allinella histaminiformans*, bactéria resistente a pH ácidos, utiliza a histidina e libera histamina, que poderia contribuir na apresentação de laminite. Entretanto, a etiologia deste quadro ainda não está completamente

elucidada. Porém, em rebanho com SARA se observa uma alta prevalência de claudicações.

Síndrome da veia cava caudal

Associada aos abscessos hepáticos, alguns animais podem apresentar congestão crônica passiva na veia cava caudal com formação de trombos que provocam hipertensão pulmonar, edema periférico e ascite. A formação dos trombos na veia cava cranial pode causar distensão da jugular e edema local, que pode culminar no desenvolvimento de aneurismas que ocasionam rupturas, provocando hemoptise aguda e morte.

Outros impactos

Outro achado nos rebanhos com acidose ruminal é o aumento das taxas de reposição por aumento das taxas de descarte, a ocorrência de poliencfalomalacia por produção de tiaminase pelas bactérias ruminais, e alta prevalência de deslocamento de abomaso. Além disso, podem ocorrer quadros de morte súbita nos animais que cursaram com quadros prévios de acidose, devido a uma hipersensibilidade anafilática as endotoxinas absorvidas.

Monitoramento do rebanho: medidas para o diagnóstico e prevenção

O monitoramento do rebanho para diagnóstico e prevenção da SARA deve ser realizado de forma integral no sistema produtivo e

considerando os diferentes espectros da produção e da saúde populacional. Consequentemente, as medidas a serem tomadas impactam positiva ou negativamente na produção e incidência de outros transtornos da saúde do rebanho. Neste texto, abordaremos os principais aspectos que afetam a incidência de SARA, visando a manutenção da produção e saúde populacional de forma integral. No monitoramento do rebanho devemos levar em conta os aspectos associados diretamente às vacas, aspectos de manejo e ambientais, e dar especial atenção à nutrição. Seguindo esta lógica, abordaremos primeiro os aspectos relacionados ao diagnóstico da SARA, visualizando aspectos observacionais nos animais, e metodologia analíticas de pH ruminal, e logo abordaremos aspectos de manejo e nutrição, que são medidas associadas não só ao diagnóstico, como à prevenção da afecção. Aspectos de ambiente e conforto como parte do monitoramento e prevenção da SARA não serão abordados neste texto.

Observação das vacas

Em propriedades com dietas ou manejos com alto risco de SARA podemos observar animais com quadros clínicos de acidose láctica ruminal, manifestada de forma hiperaguda e/ou aguda, que ocorre em um número reduzido de vacas não adaptadas à dieta ou que consomem uma grande quantidade de alimento concentrado por erro na distribuição nos cochos ou homogeneização no *mixer*. Porém, na sua forma clássica, em rebanhos com SARA observam-se sinais que podem ser sutis, como diminuição e flutuação no consumo de matéria seca durante o dia e entre

dias, situação bastante difícil de registrar na rotina de um tambo, sem o uso de monitores comportamentais. Ademais, algumas vacas podem estar mais letárgicas e apresentar grau variável de diarreia intermitente. No rebanho também podemos observar uma queda na condição corporal, e a produção de leite tende a aumentar num primeiro momento e logo pode diminuir. A incidência de deslocamento de abomaso aumenta durante o período onde a SARA é mais incidente ($> 3\%$), e após algumas semanas podem observar-se abscessos subcutâneos, ou visualizar-se abscessos hepáticos nas necropsias. Porém, antes de qualquer observação é necessário contar com os registros da propriedade, para identificar os grupos de risco, motivo pelo qual é importante formar lotes por categoria fisiológica e nível de produção, para o adequado monitoramento e para formular estratégias de prevenção. A seguir serão abordados alguns aspectos observacionais nas vacas que indicam alta incidência de SARA.

Problemas podais. Nos rebanhos com SARA pode-se evidenciar presença de sulcos nos dígitos, alta prevalência de laminite, e após algumas semanas do quadro de laminite é frequente a manifestação de úlceras e hematomas de sola e doença da linha branca. Como medida de monitoramento, é recomendado realizar periodicamente a avaliação do escore de locomoção do rebanho. Ele permite reconhecer a ocorrência de vacas com claudicação, que poderiam ser decorrentes de uma laminite crônica.

Comportamento alimentar. Vacas com SARA apresentam um consumo de matéria seca flutuante, com diminuição transitória, associado á diminuição da motilidade ruminal por aumento da osmolaridade ruminal. Ademais, quando na dieta existe fibra longa (> 7 cm) especialmente proveniente de silagens, é possível observar a seleção e rejeição da fibra no cocho. Nestes casos as vacas selecionam e consomem as partículas mais finas, diminuindo conseqüentemente as taxas de ruminação. Porém, quando o feno de qualidade está disponível *ad libitum* os animais tendem a consumi-lo. Nestes rebanhos também é frequente ver-se alguns animais consumindo solo e camas, e em locais com cochos com livre disposição de bicarbonato de sódio, se observa um alto consumo (> 50 g/ vaca/dia).

Score de ruminação. Rebanhos com SARA diminuem o tempo de ruminação, que pode indicar uma inadequada quantidade de fibra na dieta. Normalmente as vacas leiteiras ruminam enquanto descansam totalizando 6,7 horas de ruminação por dia, tempo que varia entre 3,4–14h dependendo do tipo e manejo dietético. Normalmente ruminam quando estão deitadas (5,5 h) e menor tempo quando estão em estação (1 h). Como as vacas de um mesmo lote tendem a sincronizar suas atividades, o monitoramento da ruminação pode ser feito observando diariamente o rebanho após a alimentação (40 a 70 minutos da entrega da ração), ocasião em que 50% ou mais das vacas que estão descansando deveriam estar ruminando. No caso das vacas deitadas, mais que 60% delas deveriam estar ruminando. Deve-se considerar que as vacas ruminam principalmente durante a noite, porém quando a temperatura

sobrepassa os 24°C as vacas tendem a alimentar-se pela noite e descansar durante o dia, o que altera o comportamento de ruminação.

Avaliação visual das fezes. A observação das fezes das vacas entrega informação referente à interação entre a vaca e sua dieta. Desta forma a avaliação das fezes serve para monitorar a dieta e sua digestibilidade. Entre os aspectos que devem ser avaliados estão: 1. Avaliação visual e a homogeneidades das fezes entre as vacas; 2. Escore de fezes; 3. Tamanho de partículas não digeridas nas fezes.

1. Avaliação visual e homogeneidade das fezes entre as vacas. Num grupo de vacas em dias de lactação e dieta similares, as fezes deveriam ser homogêneas. Quando um grupo de vacas apresenta fezes heterogêneas pode indicar a ocorrência de SARA e auxilia na melhora da formulação da dieta e do manejo. Entre os aspectos a ser avaliados estão os “3 Cs”: cor, consistência e conteúdo. Num rebanho com SARA é possível observar uma alta porcentagem de vacas com perda da consistência fecal pelo aumento da osmolaridade ruminal e intestinal (ver avaliação do escore de fezes); aparição de muco e fibrina, associado a lesão intestinal; e presença de borbulhas, associada a fermentação do grão não digerido na parte posterior do intestino.

2. Escore de fezes. O escore de fezes avalia a consistência fecal, observando as fezes no solo. Este parâmetro avalia a qualidade da dieta em termos de carboidratos, fibra, proteína e água, e sua digestibilidade. O escore 1 está associado a fezes líquidas verdes resultados do consumo de pastagens de alta qualidade; porém também pode ser observado em vacas com SARA e em vacas doentes. No escore 2 as fezes são

semilíquidas com uma forma definida, observadas em vacas recém paridas, em pastoreio e com SARA. No escore 3 as fezes têm forma concêntrica, tipo um vulcão, sendo considerado o escore ideal. No escore 4 as fezes são cônicas, tendendo a ser secas, sendo observadas em vacas secas com dietas com baixa proteína e alta fibra. No escore 5 as fezes se apresentam bastante ressecadas, sendo observadas em vacas doentes desidratadas ou alimentadas com dietas em base a forragens secos e com muito baixa digestibilidade.

3. Avaliação do tamanho das partículas fecais. Indica a digestibilidade da dieta. Pode ser realizada manualmente, porém idealmente com o uso do analisador de digestão (Nasco). O método manual pode ser realizado coletando-se amostras de fezes ao pé da vaca com um copo plástico. Deve-se avaliar amostras de um grupo homogêneo, de ao menos 8 vacas. As fezes, de cada vaca individualmente, devem ser colocadas numa peneira de cozinha (18 cm de diâmetro e 10 cm de profundidade), e com um fluxo constante de água lava-se o conteúdo fecal até que a água filtrada fique translúcida. Após, observa-se a presença de partículas indigeridas nas fezes, estimando a quantidade de partículas pequenas, médias e grandes, como grãos não digeridos. A presença de grãos de milho, provenientes de silagem, pode indicar que foi pobremente picada ou ensilada tardiamente. Grãos de milho com menos de 0,6 cm quando observados em conjunto com presença de fibras vegetais indica rápida taxa de passagem, que pode estar associada a silagem muito jovem ou insuficiente eF na dieta.

Como diagnosticar a SARA: mensuração do pH ruminal

O único método direto, preciso e sensível para avaliar o grau de acidose ruminal no rebanho é a determinação do pH no líquido ruminal. Entretanto, a obtenção de uma amostra representativa é fundamental para que os valores sejam reais. A este respeito se sabe que amostras obtidas mediante sondagem buço-esofágica ruminal podem sofrer contaminação por saliva (2-30%), reduzindo a sensibilidade da técnica que conseqüentemente pode aumentar o pH do líquido ruminal entre pH 0,6 a 1,7, produzindo falsos negativos de SARA. Por este motivo as amostragens realizadas mediante ruminocentese são as indicadas para monitoramento de SARA no rebanho. O volume a ser obtido depende da técnica para a determinação do pH. Preferencialmente deve-se usar o pHmetro portátil com eletrodo fino, que permita mensurar o pH em amostras de 3 a 5 mL obtidas em seringas de 5 ou 10 mL. Quando a placa de leitura do pHmetro é larga o volume de líquido ruminal deve ser maior para ser colocado num copo e permitir que o eletrodo seja submerso no líquido, necessitando de volumes entre 5 a 10 mL.

Quando obter as amostras de líquido ruminal? Devido ao comportamento ingestivo das vacas e as características de fermentação ruminal ao longo dia, as amostras de líquido ruminal deveriam ser obtidas à tarde, 2 a 4 horas após a ração vespertina com concentrado, ou 4 a 6 horas após o TMR, idealmente após a ordenha da tarde (após 16:00), ocasião onde os valores de pH estão baixando, e que seguirão

baixando até o anoitecer. Amostras obtidas pela manhã tendem a neutralidade e geram resultados falsos negativos de SARA.

Quais e quantos animais amostrar? As vacas a serem monitorados são as que têm maior risco de SARA. Entre elas estão as vacas em período de transição pós-parto (5 a 21 dias pós-parto) e as vacas no pico de produção láctea e ingestão de alimento (50 a 120 pós-parto). Para fins de validade diagnóstica em rebanhos grandes e médios deveriam coletar-se ao menos 20 vacas por grupo, e em rebanhos pequenos pelo menos 8 vacas de cada grupo. Quando no rebanho o número de vacas de cada grupo é menor a 8, recomenda-se coletar todas as vacas do grupo. É importante que as vacas selecionadas para amostragem sejam homogêneas, e representativas do grupo ao qual pertencem.

Como interpretar os resultados de pH ruminal? Para o adequado diagnóstico da ocorrência de SARA no rebanho, deve-se calcular a porcentagem de vacas com SARA, ou com valores marginais, em cada grupo de risco. Consideram-se o grupo como positivo a SARA quando 25% ou mais das vacas apresentam valores $\text{pH} < 5,5$, e marginais quando 33% ou mais das vacas tem valores $\text{pH} < 5,8$. Grupos negativos são aqueles nos quais menos de 33% das vacas apresentam valores $\text{pH} < 5,8$. Esta classificação serve para diagnosticar um rebanho com SARA ou risco de SARA (valores marginais), assim como auxilia na triagem dos fatores que estão associados na ocorrência de SARA no rebanho (Tabela 1).

Tabela 1. Interpretação de valores alterados de pH ruminal em grupos de vacas

		Vacas 50 – 120 DEL	
		+	-
Vacas < 20 DEL	+	Problemas com a ração e /ou periparto	Problema no periparto
	-	Problema da ração	Rebanho normal

DEL= dias em lactação. Grupo positivo quando 25% ou mais das vacas com pH ≤ 5,5. Grupo negativo quando menos de 33% das vacas com pH < 5,8 (Nordlund et al., 1995).

Outros parâmetros a ser observados

A composição láctea em propriedades que fazem uso do controle leiteiro permite avaliar a nutrição e o estado de saúde ruminal das vacas. Em rebanhos com SARA a gordura láctea tende a diminuir (< 3,5%), e pode ocorrer inversão entre a gordura e a proteína lácteas. Nestes rebanhos, mais de 10% das vacas apresenta gordura láctea 0,4% abaixo do valor da proteína láctea. Alguns autores consideram o cociente entre gordura:proteína lácteas < 1,0 como indicativo de SARA, porém este ponto de corte deve ser validado nos nossos rebanhos, visto que o sistema de amostragens realizado a nível de propriedade pode gerar erros metrológicos.

Monitoramento do manejo e da dieta para atuar preventivamente

O monitoramento e prevenção da SARA está associado diretamente a aspectos que auxiliam na manutenção do pH ruminal dentro de valores ótimos. Entre eles o de maior impacto é a dieta. Porém, como o valor nutricional da dieta não é estático, e a dieta formulada normalmente é diferente da dieta consumida, é muito difícil prever em quais intervalos

de valores o pH das vacas se mantêm. Por este motivo é importante mensurar o pH do líquido ruminal, com a finalidade de diagnosticar e prevenir os quadros de acidificação. Os valores ótimos para a adequada fermentação da fibra e saúde ruminal se encontra entre 6,0 a 7,0. Como medidas para manter o pH ruminal entre valores ótimos, estão a adoção de uma série de estratégias, em conjunto, visto que cada uma de forma isolada não atingirá o objetivo de manutenção do pH dentro de valores adequados, e estáveis ao longo do dia. Todos os aspectos associados à manutenção da saúde e produção devem ser tomados considerando o estado fisiológico e a produção das vacas. Assim, é necessário agrupar as vacas por estado fisiológico e produção para que possam receber a dieta de acordo com seus requerimentos. A seguir abordaremos alguns aspectos a ser considerados no manejo, na dieta e ao uso de aditivos para prevenir quadros de SARA.

Dieta no período de transição pré-parto. A prevenção da SARA inicia desde o período de transição pré-parto (-21 dias até o parto). Neste período as vacas devem ser adaptadas à dieta do pós-parto com dois objetivos principais no que diz respeito a SARA: 1. Estimular o crescimento das papilas ruminais; 2. Adaptação a dieta do pós-parto. As dietas com alta densidade energética devem ser ofertadas de forma gradual e progressiva, especialmente a animais manejados de forma extensiva, assim como as vacas secas. A dieta das vacas no período seco é de baixa qualidade, com baixas taxas fermentativas, o que culmina numa redução do tamanho das papilas ruminais em 50%. Desta forma, é fundamental incluir na dieta das vacas no período de transição alimentos energéticos que aumentem as taxas fermentativas, para estimular o

desenvolvimento das papilas. O tamanho ótimo das papilas é atingido em 4 a 6 semanas após a inclusão de dietas energéticas, e à medida que as papilas crescem ocorre um aumento da capacidade de absorção dos AGVs. Deste modo, a adaptação a uma nova dieta, como ocorre no pós-parto, deve ser feita pelo menos por 15 dias prévios ao parto.

Composição da dieta. Para avaliar os fatores de risco para SARA, assim como formular dietas para prevenção de SARA, é necessário contar com a informação das propriedades químicas (MS, digestibilidade, energia, CNF, FDN) e físicas (tamanho partícula, tipo e grau de processamento dos alimentos energéticos) da dieta, cociente forragem: concentrado, e manejo dietético.

Manejo dietético: adaptar faz diferença. A priori, qualquer mudança da dieta deve ser feita com um período de adaptação gradual a nova dieta, idealmente por 14 a 21 dias com aumentos gradativos a cada 5 a 7 dias.

Maior número de rações diárias minimiza picos de acidificação. O fracionamento da dieta várias vezes ao dia, mínimo 2 a 3 rações diárias, além de estimular o consumo (quando o alimento está disponível por mais de 20 horas ao dia), minimiza os picos de acidificação ruminal por fracionar o consumo.

TMR: forma eficaz para entregar uma dieta balanceada. O uso da dieta totalmente misturada (TMR) favorece em dois aspectos principais a saúde e produção da vaca leiteira: 1. Aumenta o consumo de matéria seca; 2. Permite a incorporação de volumosos fibrosos na dieta, por diminuir a seleção do concentrado pelas vacas, estimulando consequentemente a salivação, e por consequência a manutenção do pH

ruminal. Neste sistema é necessário monitorar a ocorrência de seleção da dieta quanto a presença de partículas grosseiras de alimento.

O cocho é importante! Dois aspectos a respeito do cocho impactam no risco de SARA: (1) Altura do cocho, pois vacas que ingerem alimento com a cabeça baixa, além de diminuir a perda de alimento, produzem 17% mais saliva. Por este motivo os cochos deveriam estar entre 5 e 15 cm da linha da sola do casco. (2) Espaço linear de cocho por vaca: para minimizar os efeitos da dominância, em sistemas estabulados com uso de TMR o espaço linear por vaca deve ser de 75 cm (linha unilateral), e quando o acesso à ração é limitado (baixo número de rações por dia), é necessário contar com 80-100 cm linear/vaca.

Como minimizar altas taxas fermentativas por excesso de carboidratos não fibrosos (CNF) de rápida degradabilidade? A dieta das vacas leiteiras deve permitir a expressão do mérito genético, tendo em conta os desafios que as altas exigências trazem consigo. Uma dieta adequada otimiza o cociente entre forragem e concentrado em termos de quantidade e sincronismo de degradação. O nível de CNF da dieta varia com o desafio a que o sistema quer impor a vaca leiteira, assim como da fonte e digestibilidade do carboidrato. Normalmente o CNF da dieta varia entre 30-40% MS, com uma taxa máxima de 45-50%. Valores ótimos são entre 38-40%, aceitáveis entre 35- 38% e mínimo entre 25-30%, estes últimos apesar de não ser acidogênicos, não são adequados para que as vacas expressem seus méritos genéticos, e podem gerar risco de transtornos energéticos em vacas em início de lactação. Também é importante limitar o conteúdo de concentrados amiláceos de rápida degradabilidade, pois são altamente acidogênicos e de difícil

sincronização com a degradabilidade da fibra dietética. Ademais, o processamento dos grãos impacta nos processos fermentativos. A degradação dos grãos é em forma decrescente maior nos grãos úmidos, que finamente moídos, que esmagados, que triturados, que inteiros secos. Desta forma, deve-se evitar o uso de grãos finamente moídos (milho e sorgo são exceção), por apresentarem rápida degradabilidade. Da mesma forma, o tipo de carboidrato afeta a degradabilidade, sendo maior em açúcares, que amido, que pectina, que celulose. E o tipo de grão utilizado, sendo maior a degradabilidade da aveia, que trigo, que cevada, que milho, que sorgo.

Como estimular a produção de saliva (efeito buffer) pelo uso de fibra efetiva e tamanho de partículas? O principal estímulo para produção de saliva nos ruminantes é o consumo de eF, que estimula a ruminação. Em torno de 60% das vacas ruminam 2 horas após a ingestão da ração, e quando existe uma adequada quantidade de fibra na dieta a produção de saliva supera 180 L ao dia. Para garantir uma adequada ruminação, a ração deve conter fibra em detergente neutro (FDN) maior a 28% (27-33% MS, NRC 2001), com um mínimo 15% FDN proveniente de forragem (70–80% da FDN). Idealmente, no início da lactação deveria ter um 19% FDN proveniente da forragem, com no mínimo FDN efetivo de 21% MS, considerando que a eF do concentrado é de aproximadamente 0,33 e a eF da forragem é de 1,0. Porém, deve-se ter cuidado com a limitação física que o consumo de fibra representa quando se atinge 1,1 a 1,2% do peso vivo em FDN de forragem no caso de multíparas, e a 0,78 % PV na 1ª semana da lactação no caso das primíparas. Como o FDN é um parâmetro químico e não físico, também

é fundamental considerar o tamanho das partículas de forragem. As partículas longas têm 3 funções principais: 1. Estimular a ruminação e consequentemente a manutenção do pH ruminal; 2. Formar uma camada flutuante que retêm as partículas menores no rúmen, melhorando a degradabilidade ruminal; e 3. Aderir a parede ruminal estimulando a absorção dos AGVs pelas papilas ruminais. Para que a fibra estimule a ruminação deve conter partículas longas entre 2 cm e 7 cm, e por regra, um 20% das partículas da forragem deveriam ter mais de 3,75 cm. Partículas maiores a 7 cm, estimulam a seleção por parte da vaca.

Uma forma de avaliar o tamanho das partículas de forragem é mediante a o uso do separador de partículas (peneira) Penn State. O objetivo da peneira é avaliar a quantidade partículas longas assim como a distribuição das partículas da ração por tamanho, permitindo verificar a eficiência do sistema de mistura do vagão de alimentação em dietas frescas. A peneira também pode ser utilizada na avaliação da seletividade dos animais, quando usada para avaliar as sobras do cocho em amostras pareadas com a dieta ofertada. Para o monitoramento da dieta do rebanho, a avaliação da dieta com a peneira deveria ser realizada semanalmente, após a distribuição da ração nos cochos (prévio a alimentação). Para avaliar o comportamento de seletividade das vacas devem-se aferir os resíduos da ração às 4, 8, 12 horas depois da alimentação. As duas bandejas superiores da peneira (19 e 8 mm de orifício) permitem estimar a porcentagem de eF da dieta (Tabela 2).

Tabela 2. Recomendações para o tamanho de partículas de forragem e TMR na Peneira Penn State

Tamiz	Silagem de milho (processada) 20 mm	Silagem de milho (não processada) 10 mm	Silagem présecada	TMR
Peneira 19 mm	> 10	< 5	> 20	> 10
Peneira 8 mm	> 60	>50	40 a 50	40-50
Peneira 1,18 mm	< 20	< 30	< 35	< 35
Fundo	< 5	< 10	< 10	≤ 20

Hutjens (2012).

Quais aditivos nutricionais podem auxiliar na manutenção do pH ruminal? Em rebanhos onde o uso de alimentos de alta densidade energética supera os 6 kg/vaca/dia, ou com produções que superam os 20 L, faz-se necessário o uso de aditivos nutricionais que modulam a fermentação e colaboram na manutenção do pH ruminal. Entre os aditivos nutricionais temos os: 1. Químicos, como os buffers ruminais [NaHCO₃] e alcalinizantes ruminais [MgO]); 2. Antibióticos (ionóforos [monensina, lasalocida], virginamicina e tilosina); 3. Microbianos, como os extratos de leveduras, leveduras vivas de *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus oryzae*, probióticos (*Selomonas ruminatium*, *Megasphaera elsdenii*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum*).

1. *Químicos*. Os tampões e alcalinizantes afetam a fermentação ruminal porque mantêm por mais tempo ao longo do dia o pH ruminal a valores superiores a pH 6,0. Consequentemente melhoram a degradação da fibra, especialmente em dietas com muita silagem (pH < 4,0), dietas muito úmidas, forragens finamente picadas, alto uso de concentrado, grãos finamente moídos, e concentrado fornecido em poucas refeições ao longo do dia. Normalmente tem-se utilizado o bicarbonato de sódio

associado ao óxido de magnésio, na proporção de 3:1, na concentração de 2% no concentrado ou 1 % na dieta total. Recentemente têm surgido alguns produtos tamponantes compostos por conchas marinhas.

2. *Antibióticos*. Entre eles temos os ionóforos (monensina, lasalocida) e a virginamicina. Eles atuam modificando o transporte de íons na membrana celular das bactérias Gram-positivas, como *Streptococcus bovis* e *Lactobacillus sp*, favorecendo as bactérias produtoras de propionato. A ação deles permite melhorar a degradabilidade da fibra e auxiliam na manutenção do pH ruminal, reduzindo o risco de acidose. Também favorecem o metabolismo energético e nitrogenado, de modo que tendem a aumentar a produção láctea. Os resultados dos antibióticos nas vacas dependem da dieta, e da forma da entrega deles na dieta, tendo melhores resultados quando entregues não misturado no alimento (sobre o alimento) quando comparado ao uso em TMR.

3. *Probióticos*. As leveduras vivas atuam mediante competição com a *Streptococcus bovis* pela glicose, reduzindo a disponibilidade deste substrato, além consumir o O₂ ruminal que é tóxico para a flora fibrolíticas. Como efeito, diminuem a produção do ácido láctico, auxiliando na manutenção do pH ruminal. Seus efeitos são observados especialmente quando o conteúdo de carboidratos rapidamente fermentáveis da dieta é a alto.

Finalmente, apesar de na atualidade existir uma ampla gama de alternativas para modular a fermentação ruminal, o uso delas depende do manejo, dieta e custo-benefício. Nenhuma estratégia de prevenção é

eficaz quando utilizada de forma isolada e sem monitoramento constante e integral do sistema produtivo.

Referências

- Bach A, C Iglesias, M Devant. 2007. Daily rumen pH pattern of loose-housed Dairy cattle as affected by feeding pattern and live yeast supplementation. *Anim. Feed Sci. & Tech.* 136, 146-153.
- Calsamiglia S, L Castillejos, M Busquet. 2005. Estrategias nutricionales para modificar la fermentación ruminal en vacuno lechero. En: XXI Curso de Especialización FEDNA, Madrid, España.
- Calsamiglia S, M Busquet, PW Cardozo, L Castillejos, A Ferret. 2007. Invited Review: Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. *J. Dairy Sci.* 90, 2580-2595.
- Contreras, PA, Noro, M. Rumen: Morfofisiología, trastornos y modulación de la actividad fermentativa. Valdivia: América, 2010.
- Krause KM, GR Oetzel. 2006. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 126, 215-236.
- Kolver ES, MJ de Veth. 2002. Prediction of ruminal pH from pasture-based diets. *J. Dairy Sci.* 85, 1255-1266.
- Nordlund K, E Garrett, G Oetzel. 1995. Herd-based rumenocentesis: A clinical approach to the diagnosis of subacute rumen acidosis. *Comp. Cont. Edu.: Food Anim.* S48, 48-56.
- O'Grady L, ML Doherty, F Mulligan. 2008. Subacute ruminal acidosis (SARA) in grazing Irish dairy cows. *The Veterinary J.* 176, 44-49.
- Varga G, E Kolver. 1997. Microbial and Animal Limitations to Fiber Digestion and Utilization. *J. Nutr.* 127, 819S-823S.

Manejo nutricional da vaca leiteira para otimizar a composição do leite⁵

Jessica Karina Poncheki
Jorge Henrique Carneiro
Rodrigo de Almeida

Universidade Federal do Paraná

Introdução

Certamente a comercialização do leite é a principal fonte de renda da maioria das propriedades leiteiras, sendo de suma importância o volume de leite produzido. Porém, assim como já ocorreu em vários países de pecuária leiteira mais desenvolvida, há uma crescente tendência pela remuneração por composição e qualidade do leite, e não apenas por volume de leite produzido. Mesmo não sendo ainda uma realidade nacional, a remuneração com bonificações e penalizações pelos teores de sólidos no leite (teores de gordura e proteína) e sanidade (Contagem Bacteriana Total - CBT e Contagem de Células Somáticas - CCS) já é uma realidade que ocorre, por exemplo, em vários laticínios e cooperativas progressistas nas regiões Sul e Sudeste do Brasil. Atualmente, um bom produtor que entrega seu leite ao *pool* ABC na

⁵ Poncheki, J.K., Carneiro, J.H., Almeida, R. 2015. Manejo nutricional da vaca leiteira para otimizar a composição do leite. II Simpósio Nacional da Vaca Leiteira. Anais. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 122-160.

região centro-oriental do Estado do Paraná, pode receber mais de R\$0,30 de bonificações por litro de leite sobre o preço base mensal (R\$0,88 + R\$0,30 = R\$1,18/L). Essas novas formas de remuneração seguem as demandas e exigências de mercado. O que se tem observado em vários países, inclusive no Brasil, é um maior interesse dos consumidores em adquirir produtos mais saudáveis. No que diz respeito à cadeia de lácteos, vem ocorrendo a princípio uma crescente busca por produtos com menores teores de gordura e maiores teores de proteína. Mesmo isto sendo verdade, é até curioso constatar que o consumidor de lácteos (no mundo inteiro) é normalmente um pouco incoerente ou até hipócrita ao consumir leite e derivados, pois se por um lado cada vez mais se consome leite fluido desnatado ou semidesnatado, nunca se consumiu tanto queijo, sorvetes e outros lácteos com altos teores de gordura. É por isso que muitos laticínios mantêm as premiações por gordura altas nos sistemas vigentes de pagamento de leite por qualidade. Reconhecidamente, a gordura é o sólido do leite que possui maior variabilidade, ou seja, é fortemente impactado pelas práticas de alimentação e manejo do rebanho. As ocorrências de queda na gordura do leite, muito comuns em todo o Brasil, particularmente em rebanhos de mediana ou alta produtividade onde a inclusão de concentrado é mais alta, são tipicamente provocadas por falta de fibra efetiva na dieta, excesso de amido, ou por ambos os fatores concomitantemente.

Tem-se observado uma crescente importância dos teores de proteína do leite, principalmente em propriedades com sistemas de pagamento do leite por qualidade. Além da variabilidade mediana, outra dificuldade de incrementar o teor de proteína do leite é a correlação negativa com os

teores de gordura do leite. Em outras palavras, práticas nutricionais e de manejo que tipicamente aumentam os teores de proteína, diminuem os percentuais de gordura. Entre as práticas mais relevantes neste incremento de proteína destacaremos o aumento nos teores de amido da dieta. Outro fator de grande importância no monitoramento é a implantação de análises rotineiras do leite, tanto amostras individuais de vacas, como amostras de tanque, para o nitrogênio ureico do leite (NUL), popularmente conhecido como “ureia do leite”. Este parâmetro nos dá uma ideia do sincronismo do metabolismo proteico e de carboidratos no rúmen. O ideal são valores intermediários de ureia no leite, entre 10 a 14 mg/dL. Embora alguns outros fatores ambientais possam afetar este parâmetro, tipicamente quando os valores de NUL estão abaixo de 10 mg/dL, imediatamente pensamos numa dieta com carência de proteína bruta (PB). Por outro lado, quando os valores de NUL estão acima de 14 mg/dL, checamos se os níveis de proteína dietética não estão excessivos e/ou os níveis de amido da dieta não estão baixos demais. Uma ferramenta adicional que pode auxiliar a identificação de erros de manejo é a relação (%) gordura/proteína (G/P) do leite. Em toda a lactação, quando a proporção de vacas com relação G/P invertida for alta (muitas vacas produzindo menos gordura do que proteína), nos auxilia num provável diagnóstico de subacidose ruminal. Por outro lado, principalmente nos primeiros 30 dias pós-parto, se a relação G/P for muito alta (acima de 1,40 na raça Holandesa), isto é indicativo de cetose subclínica ou clínica, pois neste caso, muito ácidos graxos oriundos da lipomobilização do tecido adiposo da vaca recém-parida são transferidos para o leite.

Genética, componentes e volume de leite

Mudanças na composição do leite através da genética são obtidas a longo prazo, principalmente pelo longo intervalo de gerações na espécie bovina, se comparadas às alterações produzidas por práticas de nutrição e de manejo, que geralmente ocorrem de forma quase imediata. Por outro lado, as mudanças obtidas pela genética são permanentes, ao contrário das alterações proporcionadas pelas práticas de nutrição, que são transitórias. Entre os componentes do leite, a gordura apresenta a maior variabilidade, com mediana variabilidade para a proteína e menor para a lactose. Segundo dezenas de publicações científicas, as produções de gordura e de proteína apresentam medianas herdabilidades ($h^2=0,25$ a $0,30$), enquanto que as porcentagens de gordura e de proteína apresentam altas h^2 ($0,45$ a $0,50$). Mas apesar das altas herdabilidades, selecionar para altas porcentagens de gordura e de proteína pode causar problemas, em função das porcentagens serem negativamente correlacionadas com o volume de leite.

Composição do leite e diferenças entre raças

A composição normal do leite bovino, usando como exemplo a típica composição do leite da vaca Holandesa, contém cerca de 12,5% de sólidos (Tabela 1). A composição do leite considerada normal para vacas leiteiras pode variar em função da raça dos animais. A raça Holandesa apresenta menores percentuais de sólidos, mas maiores produções totais

de gordura e proteína. As raças Jersey e Pardo-Suíço, apesar dos altos percentuais de gordura e proteína, apresentam produções totais destes componentes ligeiramente inferiores aos encontrados na raça Holandesa. Além de características raciais e genéticas, as técnicas de manejo, condições climáticas e principalmente a nutrição podem alterar a composição do leite. Por se tratar de um fator econômico oneroso para produção de leite e causar grandes impactos sob o volume de leite produzido e seus teores proteicos e lipídicos, a nutrição de bovinos leiteiros é alvo de discussões já a longa data por pesquisadores, técnicos e produtores.

Tabela 1. Composição normal do leite de vaca

Componentes	%	Subcomponentes
Água	87,5	Vitaminas hidrossolúveis
Lactose	4,7	Dissacarídeo não encontrado em outros alimentos
Gordura	3,5	Mais de 400 ácidos graxos e vitaminas lipossolúveis
Proteína	3,2	77% caseína, 17% proteínas do soro e 6% NNP
Minerais	0,8	Macro e microminerais, com destaque para o cálcio
Outros	0,2	Enzimas, hormônios e outros

Depressão da gordura do leite

Os principais sólidos do leite são proteína, lactose e gordura (Tabela 1), sendo que este último é o mais suscetível a variações por meio de nutrição e práticas de manejo alimentar. Neste caso, o problema mais frequentemente observado é a depressão da gordura do leite (DGL). Existem dois grupos principais de dietas que podem causar DGL. O primeiro grupo envolve dietas que fornecem grandes quantidades de carboidratos prontamente digestíveis e reduzidas quantidades de componentes fibrosos, tais como dietas com alta proporção de grãos e baixa proporção de forragem. Dietas onde o nível de fibra é adequado, mas a fonte de fibra é peletizada ou está demasiadamente picada também são incluídas nesta categoria, já que estes processos reduzem a capacidade da fibra de manter a atividade normal do rúmen (fibra efetiva). Os teores adequados de fibra na dieta de bovinos são primordiais para um adequado desempenho ruminal e manutenção de seu pH. Diferentes proporções entre forragem e concentrado na dieta acarretam distintos teores de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e fibra bruta (FB), em respostas ruminais distintas e em produções de ácidos graxos de cadeia curta em proporções variadas (Tabelas 2 e 3). Os teores adequados de FDN e de FDN fisicamente efetivo (FDNfe) são responsáveis pela estimulação dos movimentos ruminais e ruminação. Quanto mais o animal mastigar o alimento (proporcionado pelo ato de ruminar), maior será a produção de saliva, que contém substâncias tamponantes, auxiliando na manutenção do pH ruminal.

Tabela 2. Influência das diferentes proporções de forragem e concentrado nas respostas do rúmen

Proporção forragem/concentrado	Ruminação pão na saliva (kg/dia) (min/dia)		pH do rúmen
100/0	960	2,4	7,0
80/20	940	2,3	6,6
60/40	900	2,2	6,2
40/60	820	2,1	5,8
20/80	660	1,9	5,4
0/100	340	1,5	5,0

Davis (1967)

Tabela 3. Influência das diferentes proporções de forragens e concentrado na produção de ácidos graxos voláteis

Proporção forragem/concentrado	Acetato (%)	Propionato (%)	Relação acetato/propionato
100/0	70	18	3,9
80/20	67	20	3,4
60/40	64	22	2,9
40/60	58	28	2,1
20/80	48	34	1,4
0/100	36	45	0,8

Davis (1967)

Por décadas acreditou-se que a queda nos teores de gordura do leite era devida à escassez do acetato ruminal, principal precursor da síntese de gordura do leite na glândula mamária. De fato, quando analisamos em valores relativos, observa-se uma redução na quantidade de acetato.

Entretanto, vários trabalhos publicados na década passada, como Bauman & Griinari (2003), aboliram essa teoria. Os autores avaliaram o fornecimento de dietas contendo baixa fibra e seus efeitos sobre a produção de leite, gordura e ácidos graxos voláteis comparados a um grupo controle. Os resultados demonstraram que houve redução na produção (g/dia) e no teor (%) de gordura no leite, mas que a produção diária de acetato não foi alterada, ao contrário do propionato que foi produzido em quantidades bem acima (13,3 vs. 31,0 moles/dia) dos níveis encontrados na dieta controle (Tabela 4).

Tabela 4. Ácidos graxos voláteis no rúmen e depressão da gordura do leite em dietas de baixa fibra

Variáveis	Controle	Baixa fibra
Produção leite (kg/dia)	19,1	20,9
Produção gordura (g/dia)	683	363*
Gordura (%)	3,6	1,7*
Acetato (%)	67	46*
Propionato (%)	21	46*
Acetato (moles/dia)	29,4	28,1
Propionato (moles/dia)	13,3	31,0*

* Diferenças significativas entre controle e baixa fibra.

As características físicas dos alimentos volumosos e concentrados, o modo de fornecimento do alimento, a frequência de alimentação, bem como a competição dentro do lote, afetam diretamente o consumo e o

ambiente ruminal, que por sua vez pode refletir em uma redução do teor (%) e da secreção (kg/dia) de gordura do leite. A fibra dietética deve conter um tamanho mínimo para estimular a ruminação e conseqüentemente a produção de tamponantes pelo animal. Caso este tamanho mínimo não seja atendido e a efetividade física da fibra esteja comprometida, podemos ter problemas de DGL. Devido à importância deste assunto, discutiremos o tema mais adiante separadamente. Características físicas e de processamento dos alimentos concentrados também são relevantes para a manutenção da gordura do leite. Processos como moagem fina ou a ensilagem de certos materiais promovem um aumento expressivo na digestibilidade destes ingredientes, disponibilizando para o ambiente ruminal carboidratos mais prontamente disponíveis e rapidamente fermentáveis, como por exemplo, grão de milho moído (fubá) e silagem de grão úmido de milho. Situações em que sementes de oleaginosas são processadas em demasia ou simplesmente processadas, ocasionam a liberação do óleo contido na semente (muitas vezes rico em ácidos graxos poli-insaturados, como o linoléico) dentro do rúmen, sendo um fator predisponente a DGL. Esta situação pode ser observada ao processar soja integral excessivamente tostada, ou simplesmente pela quebra do caroço de algodão antes do fornecimento aos animais.

O segundo grupo de dietas que induzem a DGL são suplementos dietéticos contendo óleos poliinsaturados, tais como óleos de origem vegetal e de origem marinha. Como a suplementação de óleos de origem marinha é restrita pela proibição imposta pelo Ministério de Agricultura (MAPA) por conta da encefalite espongiforme bovina (BSE), nossa

preocupação deve ser direcionada aos óleos de origem vegetal e em particular às gorduras com altas proporções do ácido linoléico (C18:2), tais como o óleo de soja e produtos derivados. Em ruminantes, os lipídeos presentes na dieta são extensivamente alterados pelos microrganismos do rúmen (Jenkins, 1993). Esta alteração é uma consequência da biohidrogenação dos ácidos graxos poli-insaturados presentes na dieta, um processo que tende a tornar a gordura do leite mais saturada, mas que também resulta na formação e secreção de inúmeros ácidos graxos do tipo *trans* no leite, com destaque aos isômeros de CLA (ácido linoléico conjugado) *cis-9 trans-11* e *trans-10 cis-12*. Devido a estas e outras transformações que ocorrem no rúmen, mais de 400 tipos de ácidos graxos já foram identificados na gordura do leite de bovinos. Os ácidos graxos presentes em maior concentração são o ácido palmítico (C16:0) e o ácido oléico (C18:1 *cis-9*), sendo que a soma dos dois representa cerca de 50% do total. Os ácidos graxos secretados no leite podem ter duas origens: síntese de novo nas células epiteliais mamárias ou circulação sanguínea. Ácidos graxos de cadeia curta (4-8 carbonos) e média (10-16 carbonos) são sintetizados quase que exclusivamente pela síntese de novo na glândula mamária, predominantemente a partir do acetato (produto da degradação de carboidratos estruturais no rúmen). Em contrapartida, os ácidos graxos de cadeia longa, com 18 ou mais carbonos, são oriundos exclusivamente da circulação (dieta ou lipomobilização). Várias teorias têm sido propostas para explicar a DGL induzida pela dieta, e alterações nos processos microbianos do rúmen são a base de todas estas teorias. A concentração molar de acetato diminui, a de propionato aumenta e, por

consequência, a relação acetato:propionato cai drasticamente (Tabela 4). Entretanto, embora a proporção molar de acetato seja reduzida, a produção de acetato (moles/dia) não é afetada. Portanto, a redução na relação acetato:propionato é uma consequência da maior produção de propionato. Uma vez que a produção de acetato não é reduzida em dietas com baixa fibra, esta teoria foi abolida, pois ela não poderia explicar a DGL.

A teoria mais aceita atualmente para explicar a DGL é conhecida como *teoria da biohidrogenação* ou *teoria dos ácidos graxos trans*. Esta teoria postula que a DGL não é causada pela escassez de precursores lipogênicos para a glândula mamária. Ela afirma que a síntese mamária da gordura do leite é inibida diretamente por tipos específicos de ácidos graxos, produzidos a partir da biohidrogenação parcial dos lipídios da dieta sob certas condições ruminais. A queda no pH ruminal (proporcionada pelo fornecimento de dietas de baixa fibra fisicamente efetiva ou excesso de carboidratos rapidamente fermentáveis) altera as rotas de biohidrogenação ruminal, produzindo um ácido graxo específico, chamado de CLA *trans-10 cis-12*, cuja concentração aumenta significativamente no leite de vacas com DGL. Estudos posteriores, onde este isômero de CLA foi sintetizado industrialmente e suplementado a vacas em lactação, comprovaram sua grande capacidade de reduzir a secreção de gordura do leite, mas também de potencialmente incrementar o desempenho reprodutivo (Bernal-Santos et al., 2003, Castañeda-Gutierrez et al., 2007). De grande relevância, estudos recentes demonstraram que a formação do CLA *trans-10 cis-12* no rúmen só ocorre quando duas condições estão presentes: baixo pH ruminal (ex.:

dietas de baixa fibra) e presença de lipídeos poli-insaturados na dieta (ex.: dietas suplementadas com grãos de oleaginosas, óleo de milho, sais cálcicos de ácidos graxos a partir do óleo de soja, entre outros). A ausência de qualquer uma dessas condições não resultará em DGL. Muitas pesquisas têm focado no aumento da quantidade de ácido linoléico conjugado (CLA) e de ácido transvaccênico (*trans*-11 C18:1) na gordura do leite pelos benefícios relatados na saúde humana. Segundo Whitlock et al. (2002) certos isômeros de CLA, especialmente o *cis*-9, *trans*-11, têm sido relacionados a propriedades anticarcinogênicas, além de antiaterosclerose, antitrombótico, hipocolesterolêmico, prevenir a diabetes mellitus e apresentar efeito imunoestimulatório. Outros isômeros de CLA, incluindo o *trans*-10, *cis*-12, parecem ainda possuir propriedades antiobesidade.

Monitoramento do FDN e do FDNfe da dieta

Respeitar as recomendações e exigências de FDN e FDNfe de vacas leiteiras em suas diversas fases produtivas, são essenciais para a manutenção do pH ruminal, favorecendo assim a fermentação microbiana e a biohidrogenação adequada de ácidos graxos poli-insaturados, ou seja, sem a formação de CLA *trans*10, *cis*-12, evitando a DGL. As recomendações do penúltimo NRC para bovinos leiteiros (1989) sugeriam que a dieta de bovinos leiteiros deveria conter no mínimo 28% de FDN e 21% de FDA. Para vacas de alta produção a recomendação era de no mínimo 25% de FDN e 19% de FDA, e que 75% da FDN total da dieta deveria ser provenientes de forragem. Por

conta do uso crescente de subprodutos fibrosos nas dietas de vacas leiteiras, Mertens (1997) e o NRC (2001) estabeleceram que o valor efetivo médio do FDN não forragem é de 50% do FDN forragem. Desta forma, as recomendações seguem a seguinte regra: para cada redução de 1% no FDN forragem abaixo de 19%, a concentração do FDN total da dieta deve aumentar em 2%, enquanto que a %CNF (carboidratos não fibrosos) deve diminuir em 2% (Tabela 5). Segundo as recomendações do NRC (2001), os valores para FDN, FDA e CNF sugeridos são válidos quando três condições específicas são observadas: uso de dieta total misturada (TMR), tamanho de partícula adequado e o milho moído como a fonte predominante de amido utilizado na dieta. Em outras palavras, o NRC (2001) sugere que a concentração de FDN na dieta deve ser conservadoramente mais alto quando se usa forragem excessivamente picada ou processada e em dietas que contenham altas proporções de subprodutos ricos em FDN não forragem, tais como casquinha de soja, refinazil ou polpa cítrica. As recomendações de FDN podem sofrer ajustes em função de aspectos qualitativos da dieta, tais como fontes de amido disponíveis, tamanho de partícula da forragem, fibra efetiva da dieta, suplementação de tampões e do manejo alimentar adotado.

Tabela 5. Exigências de carboidratos estruturais segundo o NRC (2001)

Mínimo FDN Forragem	Mínimo FDN Dieta	Máximo CNF Dieta	Mínimo FDA Dieta
19	25	44	17
18	27	42	18
17	29	40	19
16	31	38	20
15	33	36	21

Tratando-se de diversas fontes de amido, as exigências de FDN aumentam quando a disponibilidade do amido no rúmen aumenta. Essa maior ou menor disponibilidade de amido no rúmen é relevante quando se compara fontes diferentes desse nutriente, como por exemplo: grãos moídos vs. grãos quebrados, grãos floculados vs. grãos secos, grãos de alta umidade vs. grãos secos, grãos de cereais de inverno vs. milho, e assim por diante. O conceito de FDN_{fe} surgiu para atender a exigência mínima de fibra que mantém a porcentagem de gordura no leite em níveis adequados. No ambiente ruminal sabe-se que nem todo FDN presente na dieta tem atividade efetiva no rúmen e no metabolismo animal, ou seja, podem não apresentar características físicas desejadas (tamanho e densidade de partículas), estímulo a atividade de mastigação e produção de saliva, manutenção de pH e neutralização de ácidos produzidos no rúmen. Mertens (1997) propôs um método para calcular o FDN_{fe}, o qual considera a %FDN na dieta e a quantidade de partículas retidas em uma peneira de 1,18 mm ($FDN_{fe} = \%FDN \times fef$). O fator de efetividade física varia de 0 a 1. Não é incomum a existência de

alimentos com quantidades de FDN muito semelhantes, mas que apresentem valores completamente diferentes de efetividade física. As exigências de FDNfe para bovinos leiteiros não foram definidas pelo NRC (2001). Mertens (1997) estimou que a exigência de FDNfe para vacas leiteiras é de 22%MS para manter um pH ruminal de 6,0 e de 20%MS para manter o teor de gordura no leite em 3,4%. Na nossa experiência, ao formular dietas em rebanhos leiteiros paranaenses, tentamos respeitar o limite de 21% de FDNfe para dietas de vacas leiteiras de alta produção, desde que os níveis de amido não sejam excessivos (até 27%MS). Mais recentemente, numa *Invited Review* muito citada e até premiada de Zebeli et al. (2012), publicada no *Journal of Dairy Science*, estes autores questionaram o uso da peneira de 1,18 mm na estimativa do FDN fisicamente efetivo, e sugeriram a peneira anterior de 8 mm. Perante esta nova recomendação, Zebeli et al. (2012) recomendaram FDNfe > 8mm entre 18,5 (para não reduzir o pH ruminal aquém de 6,2) e 14,9% (para não limitar a ingestão de MS). Avaliar o tamanho de partícula na dieta é fundamental para garantir a efetividade da fibra e evitar que os animais selecionem alimentos mais concentrados. Muitas vezes a preocupação por parte do nutricionista e do produtor, ou ambos, é tão grande para atingir níveis mínimos de partículas fisicamente efetivas que acabam pecando pelo excesso.

Diversos trabalhos demonstram que vacas têm capacidade de selecionar partículas de forragem maiores que 5 cm de comprimento. Quando a dieta total está muito “grosseira”, ou seja, com fibras excessivamente longas, damos a possibilidade dos animais selecionarem o alimento. O mais comumente observado na literatura e no campo é o

comportamento de seleção contra a fibra e a favor do concentrado. Quando este fato ocorre, o fluxo de nutrientes para o rúmen passa a ser distinto ao longo do dia, sendo que no momento logo após o fornecimento da dieta os animais ingerem grandes quantidades de concentrado, e a fibra passa a ser ingerida apenas em períodos mais distantes. Quanto mais acentuada for esta seleção, mais intensa será a queda do pH ruminal e conseqüentemente maior o risco de DGL. Para reduzir este processo seletivo, algumas medidas devem ser tomadas, como por exemplo, a picagem da forragem entre 2,5 e 5 cm. Dietas muito secas, acima de 50-55% MS, também facilitam a seleção, já que as partículas estão mais soltas na mistura. A adição de água na mistura pode ser um recurso para reduzir este comportamento, incluindo a água como ingrediente na formulação de modo que as dietas tenham entre 40-45% MS. Esta prática agrega mais partículas finas oriundas de ingredientes concentrados às forragens, dificultando a triagem. O fornecimento da dieta na forma de TMR (ração total misturada) é uma das únicas práticas nutricionais que permite o aumento concomitante da produção de leite, da porcentagem de gordura e da porcentagem de proteína. Porém a homogeneidade da TMR também é determinante para reduzir a seleção. Claramente, dietas pouco homogêneas são mais facilmente processadas pelos animais.

Diversos pontos de manejo durante o preparo da dieta devem ser monitorados para um bom resultado:

- *Tempo de mistura*: tempos de mistura entre 3 e 8 minutos são suficientes para a promoção de uma boa homogeneidade sem prejudicar em demasia o tamanho da fibra;

- *Ordem de carregamento dos ingredientes no misturador:* como recomendação geral, fenos e silagens pré-secadas devem ser incluídas primeiramente no vagão misturador, seguido de concentrados e minerais, posteriormente a silagem de milho e, se houver, a adição de líquidos;
- *Sobrecarregamento do equipamento:* os misturadores são projetados para trabalhar com certa carga, ou seja, carga acima ou abaixo do recomendado pode comprometer a eficiência do vagão. Entre 60 e 80% da carga máxima permitida pelo fabricante para aquele modelo específico deve ser preenchida para a obtenção de uma boa mistura.

Para determinar se o rebanho contém problemas de seleção, a utilização do conjunto de peneiras *Penn State* pode ser utilizada como ferramenta. Basicamente, a distribuição das partículas no conjunto deve ser obtida logo após a distribuição do alimento no cocho, sem que os animais tenham tido acesso, e minutos antes do próximo trato ou da retirada da sobra diária. Como indicativo de ausência de seleção excessiva, a diferença entre as proporções retidas na peneira de 19 mm da dieta oferecida e das sobras não deve ser superior a 10%. Fatores relacionados ao manejo alimentar como espaçamento de cocho, número de tratos diários e aproximação da dieta têm sido relatados na literatura como possíveis impactantes no teor de gordura do leite. Diversos estudos têm demonstrado que a redução do espaço individual no cocho modifica completamente o comportamento alimentar dos animais, aumentando a seleção do alimento, reduzindo o tempo de alimentação diária, o número de visitas no cocho e principalmente o consumo de matéria seca. Em

vacas de alta produção onde o consumo de MS é determinante para a produção de leite, a redução do consumo e, conseqüentemente, do aporte de nutrientes é completamente indesejável. Sova et al. (2013) observaram em seu estudo com fazendas comerciais que a cada 10 cm a mais de espaço linear de cocho houve um incremento de 0,06 pontos na porcentagem de gordura do leite. Fornecer um espaçamento na linha de cocho de mínimo de 70 cm por animal, utilizar canzils ou algum outro tipo de contenção podem ser boas práticas para reduzir a competição. É comum observar em rebanhos que existe superlotação e conseqüentemente competição entre os animais, que os teores individuais de gordura do leite dentro do mesmo lote são extremamente variáveis, com vacas de percentual de gordura muito baixos (animais dominantes que chegam primeiramente no cocho e se alimentam de uma dieta pouco selecionada, ainda rica em concentrados), e outros com valores muito elevados (animais inferiores na hierarquia do lote e que se alimentam por último, quando a quantidade de fibra da dieta já é mais alto devido a seleção prévia dos outros animais). O aumento na frequência de fornecimento da dieta aos animais tende a incrementar os teores de gordura do leite, devido a maior constância de alimentação ao longo do dia, reduzindo momentos de queda de pH ruminal muito acentuados. Ganhos significativos em produção de leite não têm sido relatados na literatura ao aumentar o número de tratos além de duas vezes ao dia, obviamente em situações que não haja limitação do consumo de matéria seca. Economicamente, aproximar a dieta mais frequentemente pode ser mais interessante que realizar diversos tratos,

uma vez que o custo operacional é muito menor e os ganhos em produção são pouco expressivos.

O quadro de subacidose é caracterizado por pH ruminal abaixo de 5,8 e uma das prováveis causas é a ingestão excessiva de carboidratos de rápida fermentação, decorrente de desbalanceamento da dieta ou seleção do alimento por parte do animal. Alguns sinais podem facilitar a identificação de acidose ruminal: consumos de MS e produções de leite variando muito de um dia para outro, esterco com aspecto inconsistente, falta de ruminação, consumo voluntário de bicarbonato, acidose sistêmica provocando laminite e depressão de modo geral das vacas, além de obviamente queda nos teores de gordura do leite.

Outra forma de diagnosticar a ocorrência da DGL em um rebanho é monitorar a relação gordura:proteína do leite. Os teores de gordura no leite apresentam maiores variações que os teores de proteína, além de ser um componente que permite maior manipulação, principalmente através da dieta. Portanto quando se diz que houve uma inversão entre a relação G/P, o que provavelmente ocorreu foi uma redução nos teores de gordura no leite e não um aumento nos teores de proteína. A relação G/P no leite considerada ideal para a raça Holandesa é de 1,1, mas valores entre 1,0 e 1,2 são aceitáveis. Se num rebanho mais de 10% das vacas em lactação apresentarem 0,2% de gordura abaixo do teor de proteína (exemplo 2,8%G e 3,0%P) isso pode ser um indício de acidose no rebanho e/ou desbalanceamento da dieta.

Impacto do aumento dos níveis de PB da dieta e nitrogênio ureico no leite

A proteína é um nutriente essencial para a produção de leite e influencia a ingestão de alimentos pelo animal. No leite de vacas, a proteína verdadeira constitui cerca de 94% do nitrogênio total e o restante é representado pelo nitrogênio não proteico (NNP). O monitoramento dos teores de nitrogênio ureico no leite (NUL) é uma ferramenta que tem se tornado cada vez mais utilizada, por estar diretamente relacionada ao teor proteico e energético da dieta e a excreção de N pelo animal. Tem-se buscado valores de NUL que representem um ponto de equilíbrio entre ingestão de proteína e produção de leite sem grandes perdas de N, ou seja, maior eficiência na utilização de N (EUN). Na última década, a maioria das publicações norte-americanas passou a sugerir metas para NUL valores entre 8 e 12 mg/dL (Kohn et al., 2002; Rajala-Schultz & Saville, 2003), com algumas publicações mais recentes sugerindo valores ainda menores, entre 7 a 10 mg/dL. No Brasil, nossa sugestão é mais conservadora: valores entre 10 e 14 mg/dL parecem ser ainda os mais indicados (Almeida, 2012; Doska et al., 2012). Embora vários rebanhos norteamericanos estejam tendo sucesso em conciliar baixos níveis dietéticos de PB (inferiores a 16,0%PB) e baixos valores de NUL (inferiores a 10 mg/dL) com altas produções de leite, acreditamos que no Brasil a redução muito exagerada dos teores de PB das dietas poderão comprometer a produção de leite. Esta distinção ocorre pela impossibilidade de uso de suplementos proteicos de origem animal (naturalmente ricos em PNDR), pela não disponibilidade de suplementos proteicos de origem vegetal com baixa

degradabilidade ruminal, bem como pela não popularidade na suplementação de aminoácidos sintéticos (metionina e lisina) em dietas brasileiras.

O monitoramento mensal do NUL pode ser uma importante ferramenta no manejo de rebanhos leiteiros, porque (1) o excesso no consumo de proteína (N) pode comprometer a eficiência reprodutiva; (2) suplementos proteicos são ingredientes caros; e (3) excessos na excreção de N têm um impacto ambiental negativo (Jonker et al., 1998). Entre as práticas nutricionais que podem favorecer o aumento do NUL, podemos destacar: redução exagerada dos níveis dietéticos de amido pela inclusão de fontes de carboidratos não amiláceos, como casca de soja e polpa cítrica; o uso de silagem de milho “nova” (menos de três meses de ensilagem); pastagens novas e muito adubadas, principalmente de inverno; pré-secado úmido e com alto %PB; e fornecimento do grão de milho mais grosseiro (quebrado ao invés de moído).

Impacto do estresse calórico na composição do leite

Animais da raça Holandesa são menos tolerantes a temperaturas mais elevadas que outras raças leiteiras europeias, como Jersey e Pardo-Suíço, e muito menos tolerantes que grupamentos raciais com sangue zebuíno, como Girolando e Gir Leiteiro. Vacas Holandesas submetidas a estresse calórico reduzem sua produtividade de forma expressiva. Num levantamento preliminar conduzido pelo nosso grupo de pesquisa (dados não publicados), realizado em 26 rebanhos paranaenses em controle leiteiro oficial na região de Arapoti, Paraná, a diferença entre o mês de

maior produtividade média (setembro) e o mês de menor produtividade média (fevereiro) alcançou 8 litros diários. O estresse calórico impacta negativamente vários parâmetros na atividade leiteira, tais como produção de leite, qualidade e composição do leite, saúde ruminal, crescimento e reprodução. St. Pierre et al. (2003) estimaram as perdas da indústria leiteira norte-americana devido ao estresse calórico em 900 milhões de dólares anuais. Avanços no manejo com a adoção de práticas de resfriamento e estratégias nutricionais podem amenizar alguns dos impactos negativos do estresse calórico em bovinos leiteiros, mas as produções continuam a declinar nos meses mais quentes.

O mecanismo biológico pelo qual o estresse calórico impacta a produção e a reprodução é parcialmente explicado pela depressão no consumo alimentar, mas também inclui outros fatores tais como mudança no status endócrino, reduções na ruminação e na absorção de nutrientes e aumento nas exigências de manutenção. As reduções tanto nos teores de gordura como nos de proteína verdadeira relatadas nas épocas mais quentes do ano pela indústria leiteira norte-americana se situa entre 0,2 e 0,3%. Infelizmente desconhecemos a existência de levantamentos similares pela indústria leiteira nacional. De acordo com Nayeri et al. (2011) existem algumas estratégias que podem ser adotadas para minimizar o impacto do estresse calórico na produção e composição do leite. Uma das mais tradicionais é aumentar a densidade energética da dieta, seja pela redução de fibra, pelo aumento do concentrado ou ainda pela suplementação de gorduras. Estas práticas devem ser adotadas com cuidado, pois se aumenta a predisposição das vacas em estresse calórico à acidose ruminal. A manipulação da Diferença CatiônicaAniônica da

Dieta (DCAD), buscando valores francamente positivos durante a lactação (+20 a +30 meq/100 g MS), bem como o aumento nos níveis dietéticos do mineral potássio no verão (1,4 a 1,6%MS) também têm sido sugeridos. Outras práticas nutricionais e de manejo comumente recomendadas são o fornecimento preferencial de alimento (60-70% da dieta) nas horas mais frescas do dia, a limpeza mais frequente dos cochos com maior número de tratos diários, o fornecimento de concentrado mais parcelado ao longo do dia e a inclusão de 2 a 2,5 kg de caroço de algodão.

Impacto de alguns aditivos nutricionais na composição do leite

Monensina

A monensina, assim como outros ionóforos, é um antibiótico produzido por fungos do gênero *Streptomyces cinnamomensis*, com reconhecida eficácia nas explorações pecuárias. Os dados de literatura são abundantes e extremamente consistentes para o efeito dos ionóforos, tanto em bovinos de corte como em bovinos leiteiros. A maior parte dos experimentos foi conduzida com monensina sódica. O efeito mais notório dos ionóforos é o aumento da retenção de energia fermentada no rúmen devido a uma alteração no padrão de fermentação, com maior produção de propionato (C3) em relação a acetato (C2) e decorrente diminuição das perdas através do metano. Os ionóforos também parecem diminuir a degradação da proteína ruminal e, portanto, reduzindo a degradação de peptídeos e aminoácidos e resultando em menor produção

de amônia. Por último, os ionóforos (particularmente a monensina) diminuem a ocorrência de distúrbios metabólicos, como acidose e timpanismo, pela menor concentração de ácido láctico e menor produção de mucopolissacarídeos que dão estabilidade à espuma. Os efeitos nas produções de gordura e de proteína são heterogêneos e dependem de fatores dietéticos. Em uma meta-análise que reuniu 36 artigos ou 77 experimentos envolvendo monensina e dados de produção (Duffield et al., 2008), a suplementação com monensina aumentou a produção de proteína e não apresentou efeito na produção de gordura. Durante muito tempo atribuiu-se à menor produção de acetato no rúmen o efeito de redução na gordura no leite, já que de fato o acetato é o principal precursor da gordura do leite. Mas hoje se sabe que na realidade o efeito depressor da monensina na gordura do leite é explicado pela diminuição das taxas de biohidrogenação dos ácidos graxos insaturados no rúmen, o que contribui no aumento das concentrações do ácido linoléico conjugado *trans*-10 *cis*-12, potente inibidor da síntese de gordura do leite na glândula mamária (Bauman & Griinari, 2003). Duffield et al. (2008) confirmaram que a suplementação com monensina aumenta a proporção de ácido linoléico conjugado (CLA) no leite. Maiores consumos de fontes lipídicas insaturadas na dieta e altas inclusões de monensina (ao redor de 400 ppm) exacerbam a diminuição da gordura do leite com o tratamento com monensina. Dosagens recomendadas de monensina para vacas em lactação estão entre 11-22 mg/kg de MS consumida, ou 250-400 mg/vaca/dia (Hutjens, 2010). No Brasil, devido ao impacto negativo da monensina sobre a gordura do leite e ao potencial decréscimo no

consumo de ração, dosagens mais próximas do limite inferior são sugeridas (11-15 mg/kg).

Leveduras

Leveduras vêm sendo fornecidas aos animais há mais de cem anos. Embora existam aproximadamente 500 diferentes espécies de leveduras, a mais comum na suplementação dos bovinos é a *Saccharomyces cerevisiae*. Segundo Santos & Greco (2012), de modo geral, o efeito das leveduras vivas e cultura de leveduras se dá por alterações no ambiente ruminal, com mudanças na população microbiana que favorecem o crescimento de microrganismos celulolíticos e daqueles utilizadores do ácido láctico. De maneira geral, a adição de leveduras a dieta de bovinos leiteiros resulta em aumento na ingestão de MS, estabilidade do pH ruminal (utilização do ácido láctico), melhora a digestão de fibra no rúmen, aumenta a produção de leite (entre 1 a 1,2 kg/dia), aumenta a concentração de gordura no leite e a produção de componentes do leite (Santos & Greco, 2012). De acordo com os autores citados anteriormente, a dose típica recomendada para bovinos leiteiros é de 1 a 2×10^{10} unidades formadoras de colônias por dia para bovinos adultos. A conversão desses valores em g/dia/animal depende da concentração de leveduras presentes no produto comercial, mas os valores podem variar de 5 a 120 g/dia.

Aminoácidos metionina e lisina

A alimentação de vacas leiteiras especializadas baseia-se na oferta dos nutrientes exigidos pelo animal de forma a atender suas necessidades adequadamente, sem que ocorra a falta ou o excesso de algum nutriente. A proteína, quando em excesso na dieta, além de promover a maior produção de fezes, também é responsável pela ineficiência de utilização do nitrogênio para a produção de leite (Jonker et al., 2002). Com isso, torna-se imprescindível a utilização de dietas adequadamente formuladas, principalmente quanto aos teores de proteína e seus aminoácidos limitantes (metionina e lisina), que atendam às necessidades da vaca leiteira especializada, resultando potencialmente em maior quantidade e qualidade de leite, redução dos impactos negativos ao ambiente e diminuição dos custos com a alimentação (NRC, 2001). Robinson (2010) numa revisão de literatura que reuniu 54 experimentos comparando a suplementação de lisina e/ou metionina com dietas controle, concluiu que a manipulação das proporções de lisina e metionina da proteína duodenal pela suplementação de metionina protegida, ou lisina combinada a metionina, apresentou efeitos positivos, mas modestos, na melhoria do desempenho produtivo, bem como na redução do impacto ambiental de vacas leiteiras. Robinson (2010) justificou os resultados argumentando que a contribuição da proteína microbiana na proteína metabolizável é tão grande, e que o perfil de aminoácidos desta proteína é tão similar com o perfil de aminoácidos das proteínas do leite, que mesmo suplementando um aminoácido específico, o benefício gerado em resposta animal é geralmente pequeno. Ainda

assim, na meta-análise conduzida, o autor concluiu que a suplementação com metionina aumentou em 1,3% a secreção de energia no leite, bem como os teores de gordura (+1,1%) e de proteína (+2,3%) no leite, além de aumentar em 2,1% a proporção de N dietético capturado como N no leite (eficiência de utilização do nitrogênio).

Em nossa opinião, há pelo menos três razões que limitam a inclusão de metionina análoga em dietas de rebanhos leiteiros brasileiros: (1) a ainda restrita adoção de sistemas de pagamento de leite por qualidade, (2) a falta de dados nacionais mostrando os benefícios da inclusão dietética de metionina e (3) o pouco número de rebanhos de boa produtividade que justificam a suplementação. Por outro lado, há no mínimo três razões que justificam a inclusão da metionina análoga em rebanhos nacionais: (1) o fato de o farelo de soja (pobre em metionina) ser o principal suplemento proteico em dietas de vacas leiteiras, (2) a proibição (até exagerada) de suplementos proteicos de origem animal em dietas de ruminantes no Brasil e (3) a limitada disponibilidade no mercado brasileiro de alimentos proteicos de origem vegetal com baixa degradabilidade ruminal. Por conta da pequena disponibilidade de suplementos proteicos com maiores valores de proteína não degradável no rúmen e da não popularidade da suplementação de aminoácidos protegidos (metionina em particular), há no Brasil uma cultura entre os nutricionistas de bovinos leiteiros que rebanhos ou lotes de vacas de alta produção devem ser suplementados com altos teores de proteína bruta (ao redor de 17 a 18%PB). Não concordamos com esta excessiva margem de segurança, e acreditamos que é possível trabalhar com valores menores (16 a 16,5%PB).

Bicarbonato de sódio e óxido de magnésio

Segundo o NRC (2001) compostos tais como bicarbonato de sódio e óxido de magnésio são incorporados às dietas a fim de reduzir transtornos digestivos e manter o teor de gordura no leite, principalmente quando as dietas são ricas em grãos (carboidratos de alta fermentabilidade) e/ou pobres em ingredientes volumosos, fontes de fibra efetiva. Quando corretamente suplementados, estes tampões estabilizam o pH ruminal em torno de 6,2 permitindo um máximo crescimento das bactérias celulolíticas. O óxido de magnésio, além de ser fonte do macromineral magnésio, é um alcalinizante e parece atuar também na captura de metabólitos sanguíneos pela glândula mamária, aumentando o teor de gordura no leite produzido. A recomendação de inclusão do óxido de magnésio é de 1 parte deste alcalinizante para cada 2-3 partes de bicarbonato de sódio. Assim, quando há suplementação de óxido de magnésio, não se recomenda a exclusão do bicarbonato de sódio, mas sim a adição de ambos. As recomendações de bicarbonato de sódio então entre 0,75-1,0% MS/dia, e de óxido de magnésio em 0,25% MS/dia. Segundo Almeida & Ostrensky (2011), em rebanhos confinados de mediana e alta produtividade, outra forma de suplementar bicarbonato de sódio às vacas é fornecê-lo *ad libitum*, em cochos exclusivos, além do bicarbonato já fornecido às dietas. Neste caso a função do bicarbonato ofertado nos cochos é de monitorar possíveis ocorrências de acidose ruminal subaguda. Como animais sem acidose não consomem voluntariamente o bicarbonato, quando isto acontece de maneira ávida

por muitos animais, pode chamar a atenção do produtor que a dieta está desequilibrada e que o nutricionista do rebanho precisa reformular as dietas.

Gordura protegida

Gordura protegida ou gordura inerte ruminal é um sal cálcico de um ácido graxo (AG), ou seja, um produto onde se combinam moléculas de AG com cálcio, para que o produto passe pelo rúmen sem sofrer dano extensivo pela ação da flora ruminal e sem interferir com esta. A ligação entre o cálcio e o AG não é quebrada por ação de enzimas microbianas e sim pelo pH do meio. Segundo Almeida & Ostrensky (2011) para a produção deste sal cálcico de AG podem ser utilizadas fontes de lipídeos predominantemente saturados (como a gordura de palma) ou insaturados (como os demais de origem vegetal, mas principalmente o de soja). O efeito da suplementação de gordura protegida (na verdade, sais cálcicos de ácidos graxos) para bovinos leiteiros demonstra resultados variáveis sobre a composição do leite, dependendo da composição e da quantidade de gordura oferecida. A suplementação de gorduras a base de ácidos graxos (AG) saturados é mais segura, pois estes são mais estáveis no rúmen, portanto contribuem para a manutenção do teor de gordura no leite. As fontes ricas em AG poli-insaturados são mais dependentes do pH ruminal para sua não dissociação e conseqüente manutenção dos teores de gordura no leite. A explicação pela moderada depressão da gordura do leite nos animais suplementados com sais cálcicos de AG de óleo de soja é que os AG insaturados encontrados nesta fonte de gordura

supostamente inerte não são tão eficientemente protegidos contra a biohidrogenação parcial no rúmen, fato já demonstrado por Chouinard et al. (1998). Mudanças na biohidrogenação destes AG insaturados devem ter contribuído para a síntese do ácido linoléico conjugado *trans-10 cis-12*, potente inibidor da síntese de gordura do leite na glândula mamária (Bauman & Griinari, 2003). Praticamente a totalidade dos experimentos consultados com suplementação de gorduras resultou em redução na porcentagem de proteína (Rabiee et al., 2012), principalmente da caseína. Esta redução pode ter impacto negativo nos atuais sistemas de pagamento do leite por qualidade. Práticas para amenizar esta redução nos teores proteicos do leite seria a suplementação com niacina, formulação de dietas com maiores níveis de PNDR (proteína não degradável no rúmen) e suplementação de aminoácidos protegidos ou análogos.

Somatotropina bovina

A condição nutricional das vacas tanto antes quanto durante a suplementação de somatotropina bovina (bST) determina o efeito deste hormônio sobre as concentrações de gordura e proteína no leite (NRC, 2001). Quando se faz uso de somatotropina bovina associada a uma alimentação e manejo adequados e em balanço energético positivo, as porcentagens de gordura, proteína, lactose, vitaminas e minerais não variam em animais suplementados (St-Pierre et al., 2014). Porém, quando tais requerimentos não são atendidos e o balanço energético negativo é prolongado, a porcentagem de gordura aumenta, a

porcentagem de proteína diminui e a composição das gorduras do leite é alterada, com maior proporção de ácidos graxos de cadeia longa, oriundos da mobilização mais intensa das reservas corporais (Bauman et al., 1989).

Relação gordura:proteína no leite e indicadores de cetose subclínica

Para Heuer et al. (1999) a relação gordura:proteína deve ser analisada a nível de rebanho; se mais de 40% dos animais apresentarem valores abaixo de 1,0 ou acima de 1,4 o rebanho tem grandes riscos de apresentar casos de acidose ou cetose, respectivamente. Nosso grupo de pesquisa conduziu um estudo realizado em rebanhos paranaenses entre os anos de 2000 e 2013 (Poncheki, 2015). Foram avaliados 257.847 primeiros controles leiteiros mensais de vacas que estavam em controle oficial. Este trabalho indicou que 63,5% das vacas no primeiro controle leiteiro após o parto estavam com a relação gordura:proteína dentro dos valores ideais. Valores abaixo de 1,0 sugerem uma depressão da gordura do leite, sendo que neste banco de dados representaram 20,6% das avaliações. Quando nos deparamos com valores acima de 1,4 refere-se a um aumento na proporção de gordura do leite, que pode ter relação com quadros de cetose (clínica ou subclínica) e neste estudo representaram 15,9% dos primeiros controles leiteiros após o parto avaliados. Estes quadros de relação gordura:proteína acima de 1,4 podem ser mais evidenciados em situação de balanço energético negativo (BEN), onde animais com BEN muito acentuado ou muito prolongado mobilizam mais reservas corporais para manter a produção de leite. A gordura que é

mobilizada se direciona para a glândula mamária, onde irá compor a gordura do leite, particularmente ácidos graxos de cadeia longa. Van Haelst et al. (2008) avaliaram se alguns ácidos graxos específicos da gordura do leite podem ser usados na detecção precoce de cetose subclínica. Vacas leiteiras recém-paridas, diagnosticadas com cetose subclínica (BHB > 1,2 mmol/L), apresentaram elevadas proporções de C18:1 *cis*-9 na gordura do leite, conhecido como ácido oleico. Ainda mais recentemente alguns serviços de controle leiteiro ao redor do mundo, estão mensurando as concentrações de beta-hidroxibutirato (BHB) diretamente no leite, em amostras de leite de vacas recém-paridas (Van der Drift et al., 2012).

Resumo das práticas nutricionais e de manejo que afetam a composição do leite

Na Tabela 6 estão resumidas importantes práticas de nutrição e de manejo que podem afetar tanto a produção de leite, como os teores de gordura e proteína.

Tabela 6. Práticas de nutrição e de manejo que podem afetar a produção de leite e seus principais componentes

Prática adotada	kg leite	% proteína	% gordura
Maior consumo de MS	++	0?	0?
↑ Forragem, ↓ grãos	-	-	+
↓ Forragem, ↑ grãos	+	+	-
↑ Silagem de milho, ↓ pré-secado	+	+	-
↑ Carboidratos não estruturais	+	+	-
↑ FDN/FDA	-	-	+
↑ Suplementos de gordura	+	-	0
Grãos mais frequentemente	+	+	+
Proteína bruta mais alta	+	+	0
↑ Proteína não degradável	+	+	0
↑ Aminoácidos limitantes	+	+	0
Dieta total misturada (TMR)	++	+	+
Grão úmido de milho	+	+	-
Milho finamente moído	+	+	-
Uso de tampões	+	0	+

Adaptado de Hutjens & Shanks (1993)

Conclusões

Nutrição, manejo e melhoramento genético são os principais meios de se alterar a composição do leite. Mudanças na composição do leite através da genética são obtidas a longo prazo quando comparadas às mudanças produzidas por práticas de nutrição e de manejo, que

geralmente ocorrem de forma quase imediata. Por outro lado, as mudanças obtidas pela genética são permanentes, ao contrário das alterações proporcionadas pelas práticas de nutrição, que são transitórias. Nutricionalmente, os teores de gordura e proteína no leite são antagônicos. Assim, práticas nutricionais e de manejo que aumentam a produção de leite também aumentam os teores de proteína do leite, mas por outro lado estas mesmas práticas diminuem os teores de gordura do leite.

Considerações finais

O processo de valorização da qualidade do leite não pode ser negligenciado para uma data futura. Se o sistema de pagamento aos produtores não for compatível com as exigências do mercado consumidor, a sobrevivência de toda a cadeia produtiva do leite nacional estará seriamente comprometida. A indústria de lácteos brasileira somente poderá competir com outras bebidas (refrigerantes, sucos, água, cerveja, bebida de soja, etc.) se colocar à disposição do mercado consumidor um produto seguro, nutritivo e saboroso.

Por fim, acreditamos piamente que os sistemas de pagamento de leite por qualidade vieram para ficar. Cada vez mais, produtores que entregam leite com altos teores de gordura e de proteína e baixas CCS e CBT, receberão premiações cada vez mais altas pelo seu leite. De maneira oposta, produtores com leite de altas CCS e CBT e baixos teores de gordura e proteína serão crescentemente penalizados. Por mais “cruel” que esta relação de mercado pode parecer a alguns, esta tendência será positiva para o setor

e principalmente para o consumidor de lácteos brasileiro, pois neste momento “leite de qualidade” no Brasil passará a ser a regra, e não mais a exceção.

Referências

- Almeida, R.; Ostrensky, A. 2011. Aditivos para gado leiteiro. Manejo Alimentar de Bovinos. Editores C.M.M. Bittar, F.A.P. Santos, J.C. Moura e V.P. Faria. Piracicaba: FEALQ, p.217-256.
- Almeida, R. 2012. Nitrogênio ureico no leite como ferramenta para ajuste de dietas. In: II Simpósio Internacional em Formulação de Dietas para Gado Leiteiro. Anais... Lavras, p.35-65.
- Bauman, D.E.; Griinari, J.M. 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annu. Ver. Nutr.* 26, 203227.
- Bauman, D.E.; Hard, D.L.; Crooker, B.A.; Partridge, M.S. et al. 1989. Long-term evaluation of prolonged release formulation of N-methylionyl bovine somatotropin in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 72, 642-651.
- Bernal-Santos, G.; Perfield, J.W.; Barbano, D.M. et al. 2003. Production responses of dairy cows to dietary supplementation with conjugated linoleic acid (CLA) during the transition period and early lactation. *Journal of Dairy Science* 86, 3218-3228.
- Castañeda-Gutierrez, E.; Benefield, B.C.; Veth, M.J. et al. 2007. Evaluation of the mechanism of action of conjugated linoleic acid isomers on reproduction in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 90, 42534264.
- Chouinard, P.Y.; Girard, V.; Brisson, G.J. 1998. Fatty acid profile and physical properties of milk fat from cows fed calcium salts of fatty acids with varying unsaturation. *Journal of Dairy Science* 81,471481.
- Davis, C.L. 1967. Acetate production in the rumen of cows feed either control low-fiber, high-grain diets. *Journal of Dairy Science* 50, 1621-1625.
- Doska, M.C.; Silva, D.F.F.; Horst, J.A.; Valloto, A.A.; Rossi Jr, P.; Almeida, R. 2012. Sources of variation in milk urea nitrogen in Paraná dairy cows. *Revista Brasileira de Zootecnia* 41, 692-697.

- Duffield, T.F.; Rabiee, A.R.; Lean, I.J. 2008. A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 2. Production effects. *Journal of Dairy Science* 91, 1347-1360.
- French, N.; Kennelly, J.J. 1990. Effects of feeding frequency on ruminal parameters, plasma insulin milk yield, and milk composition in Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 73, 1857-1863.
- Heuer, C.; Schukken, Y. H.; Dobbelaar, P. 1999. Postpartal body condition score and first milk test results as predictors of disease, fertility, production, and culling in commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science* 82, 295–304.
- Hutjens, M.F.; Shanks, R.D. 1993. Feeding for milk composition. In: 1993 Tri-State Dairy Nutrition Conference. Proceedings... Fort Wayne, p.162.
- Hutjens, M.F. 2010. Sorting through your feed additive choices. *Hoard's Dairyman*, September 25, p.620621.
- Jenkins, T.C. 1993. Lipid metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science* 76, 3851-3863.
- Jonker, J.S.; Kohn, R.A.; Erdman, R.A. 1998. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 81, 2681-2692.
- Jonker, J.S.; Kohn, R.A.; High, J. 2002. Dairy herd management practices that impact nitrogen utilization efficiency. *Journal of Dairy Science* 85, 1218-1226.
- Kohn, R.A.; Kalscheur, K.F.; Russek-Cohen, E. 2002. Evaluation of models to estimate urinary nitrogen and expected milk urea nitrogen. *Journal of Dairy Science* 85, 227-233.
- Mertens, D.R. 1997. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 80, 1463-1481.
- National Research Council. 1989. Nutrient requirements of dairy cattle. 6th ed. Washington, D.C.: National Academy Press.
- National Research Council. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th ed. Washington, D.C.: National Academy Press.

- Nayeri, A.; Upah, N.C.; Sucu, E.; Pearce, S.C.; Fernandez, M.V. et al. 2011. Potential nutritional strategies to mitigate the negative effects of heat stress. In: 2011 Four-State Dairy Nutrition and Management Conference. Proceedings... Dubuque, p.128-133.
- Poncheki, J.K. 2015. Avaliação do manejo de vacas no período de transição utilizando as informações do primeiro controle leiteiro após o parto. Curitiba. Dissertação [Mestrado em Ciências Veterinárias]. Universidade Federal do Paraná.
- Rabiee, A.R.; Breinhild, K.; Scott, W.; Golder, H.M. et al. 2012. Effect of fat additions to diets of dairy cattle on milk production and components: A meta-analysis and meta-regression. *Journal of Dairy Science* 95, 3225-3247.
- Rajala-Schultz, P.J.; Saville, W.J.A. 2003. Sources of variation in milk urea nitrogen in Ohio dairy herds. *Journal of Dairy Science* 86, 1653-1661.
- Robinson, P.H. 2010. Impacts of manipulating ration metabolizable lysine and methionine levels on the performance of lactating dairy cows: A systematic review of the literature. *Livestock Science* 127, 115-126.
- Robinson, P.H. 1989. Dynamic aspects of feeding management for dairy cows. *Journal of Dairy Science* 72, 1197-1209.
- Santos, J.E.P.; Greco, L.F. 2012, Leveduras vivas e cultivo de leveduras em dietas de bovinos leiteiros. II Simpósio Internacional em Formulação de Dietas para Gado Leiteiro. Anais... Lavras, p.09-33.
- Sova, A. D.; Leblanc, S. J.; McBride, B. W.; Devries, T. J. 2013. Associations between herd-level feeding management practices, feed sorting, and milk production in freestall dairy farms. *Journal of Dairy Science* 96, 4759-4770.
- St-Pierre, N.R.; Cobanov, B.; Schnitkey, G. 2003. Economic losses from heat stress by US livestock industries. *Journal of Dairy Science* 86, E52-E77.
- Van der Drift, S.G.A.; Jorritsma, R.; Schonewille, J.T. et al. 2012. Routine detection of hyperketonemia in dairy cows using Fourier

transform infrared spectroscopy analysis of β -hydroxybutyrate and acetone in milk in combination with test-day information. *Journal of Dairy Science* 95, 4886-4898.

Van Haelst, Y.N.T.; Beeckman, A.; Van Knegsel, A.T.M.; Fievez, V. 2008. Elevated concentrations of oleic acid and long-chain fatty acids in milk fat of multiparous subclinical ketotic cows. *Journal of Dairy Science* 91, 4683-4686.

Whitlock, L.A.; Schingoethe, D.J.; Hippen, A.R. et al. 2002. Fish oil and extruded soybeans fed in combination increase conjugated linoleic acids in milk of dairy cows more than when fed separately. *Journal of Dairy Science* 85, 234-243.

Zebelli, Q.; Aschenbach, J.R.; Tafaj, M. et al. 2012. Invited review: Role of physically effective fiber and estimation of dietary fiber adequacy in high-producing dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 95, 1041-1056.

Imunidade da vaca leiteira: desafios metabólicos⁶

**Eduardo Schmitt
Paula Montagner**

Universidade Federal de Pelotas

Nos rebanhos leiteiros, o aumento do nível de produção por vaca/ano tem sido associado com maior incidência de doenças. Isto tem impulsionado estudos para o entendimento dos eventos metabólicos, que influenciam a saúde da vaca leiteira. Entretanto, apenas recentemente as relações entre doenças metabólicas e doenças infecciosas vêm sendo explicadas mais claramente, na medida em que avançam as pesquisas na área da imunologia e biologia molecular. As células do sistema imune, assim como as de outros órgãos, dependem de um ambiente endócrino e metabólico devidamente equilibrado para um bom funcionamento, o que torna o periparto da vaca de alta produção um momento desafiador para imunidade.

Adaptações do periparto

Durante o ciclo produtivo da vaca leiteira, o período seco, que se dá entre o término de uma lactação até o parto, é marcado por importantes mudanças fisiológicas. Em média, a vaca gestante tem 60 dias, para

⁶ Schmitt, E., Montagner, P. 2015. Imunidade da vaca leiteira: desafios metabólicos. II Simpósio Nacional da Vaca Leiteira. Anais. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 161-184.

involução e remodelação do tecido mamário, síntese de colostro e preparação da glândula mamária para uma nova lactação, ao mesmo tempo em que ocorre aumento da taxa de crescimento fetal (Bell, 1995). A dinâmica destas mudanças, coordenadas pelo sistema endócrino, impõe grandes desafios adaptativos no metabolismo da gestante tornando a transição entre as três últimas semanas de gestação e as três primeiras de lactação, críticas para saúde da vaca leiteira (Drackley 1999; Chapinal et al., 2012). Próximo ao parto há uma redução do apetite, com menor ingestão de matéria seca (IMS), seguido de um abrupto aumento no requerimento energético e mineral, logo após o parto (Ingvarsen & Anderson, 2000; Goff, 2000, Dracley et al., 2005). Esta condição, de baixa ingestão de matéria seca, em um momento de alta demanda para manutenção e produção (Tabela 1), determina um balanço energético negativo (BEN), que pode variar de intensidade conforme o manejo nutricional, entre vacas primíparas e multíparas, evento do parto (distócico ou normal), produção de colostro e principalmente, pela produção leiteira no pós-parto recente (Drackley, 1999; Ingvarsen & Anderson, 2000).

Tabela 1. Requerimentos (MJ/d) de energia líquida para lactação (ELL) de vacas multíparas e primíparas dois dias antes vs. dois dias após o parto, segundo NRC (2001)

Status fisiológico	Multípara (725 kg)		Primípara (570 kg)	
	-2	2	-2	2
Manutença	46,9	42,2	39,9	35,6
Gestação	13,8	---	11,7	---
Crescimento	---	---	7,9	7,1
Produção de leite	---	78,2	---	62,3
Total	60,7	120,4	58,5	105

Drackley et al. (2005).

Tem sido demonstrado que o BEN intenso, juntamente com a função imunológica suprimida em torno do parto, contribui para a incidência elevada de doenças infecciosas, como mastites e doenças do trato reprodutivo (Kehrli et al., 1989 a,b; Wathes et al., 2009; Chapinal et al., 2012). Por isso, o manejo nutricional durante o período de transição é determinante para saúde dos rebanhos, influenciando no desempenho lactacional e conseqüentemente na rentabilidade dos sistemas de produção leiteira (Bradford & Yuan, 2015). Apesar de reconhecidamente o manejo nutricional e o estado metabólico no período de transição afetarem as reações do sistema imune, a diversidade e complexidade de processos mediados pelas células inflamatórias ainda exigem ampliação do conhecimento dos fatores associados a sua ativação e funcionamento.

Resposta imune

O sistema imunológico é uma rede interativa de órgãos linfóides, células e fatores humorais, organizados para reconhecer, resistir e eliminar qualquer ameaça a integridade dos tecidos. Apesar de estas respostas serem altamente integradas, classifica-se a imunidade em inata e adaptativa, com base na velocidade e especificidade das reações desencadeadas (Daha, 2011). Este capítulo será direcionado as relações de imunidade inata com o metabolismo durante o periparto. A imunidade inata engloba os elementos físicos, químicos e celulares do sistema imunitário, que fornecem defesa imediata não específica ao hospedeiro, através das ações de neutrófilos, monócitos, macrófagos, células *natural killer*, sistema complemento, citocinas e proteínas de fase aguda. Cerca de 95% dos desafios infecciosos são resolvidos por respostas imunitárias inatas (Daha, 2011). As células do sistema inato reconhecem padrões moleculares associados a agentes patogênicos (PAMMs) e padrões moleculares associados a danos (DAMPs), através de receptores de reconhecimento de padrões específicos (PRRs) e produzem mediadores que induzem inflamação e atraem mais células imunes para a área danificada (Medzhitov, 2008). O sistema imune inato identifica e suprime os patógenos através de um conjunto altamente conservado de PRR. Estes receptores são a chave para iniciar a inflamação, que pode ser induzida de forma exógena, por ação microbiana, indutores não microbianos, ou endogenamente através de lipoproteínas (Medzhitov, 2008). Os indutores da inflamação ativam os macrófagos presentes no tecido (Luster et al., 2005) estimulando a produção de mediadores

inflamatórios como aminas vasoativas, peptídeos, prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos, citocinas pró-inflamatórias (TNF, IL-1 e IL-6) e enzimas proteolíticas. Estes mediadores podem atuar tanto local, como sistemicamente. A resposta local é caracterizada por vermelhidão, calor, dor e inchaço, enquanto a resposta sistêmica é observada através de febre e efeitos endócrinos. Além disso, estimulam o recrutamento de leucócitos e induzem uma resposta de fase aguda, que podem manifestar-se com alterações nas concentrações de proteínas plasmáticas, aumento da permeabilidade vascular e promovendo alterações no metabolismo. Periféricamente, as citocinas pró-inflamatórias (CPIs) modificam o metabolismo catabólico, aumentando a lipólise do tecido adiposo, proteólise no tecido muscular, além de aumentar a glicose no sangue, provavelmente, devido ao aumento da liberação de cortisol e resistência à insulina. As CPIs também reduzem a taxa de esvaziamento gástrico, induzem dor nas articulações e afetam a ativação do sistema hipófise-adrenal, resultando em um aumento da temperatura corporal, letargia com diminuição da locomoção e a exploração social, o que vem a reduzir o interesse na comida. Estes efeitos podem ajudar a barrar os patógenos e favorecer a reparação do dano tecidual. No entanto, dependendo da gravidade da inflamação, os efeitos negativos podem ser também muito importantes para a qualidade de vida, e especificamente em bovinos para o desenvolvimento de doenças subclínicas e diminuição da produção de leite.

Adaptações endócrinas e função imune

No terço final de gestação os hormônios desempenham um importante papel na preparação da gestante para o parto, com alterações tanto nas concentrações circulantes como na sensibilidade dos tecidos (Bell, 1995). A insulina plasmática tem um declínio, assim como a sensibilidade dos tecidos a este hormônio, enquanto os glicocorticoides e o hormônio do crescimento aumentam suas concentrações e a sensibilidade nos tecidos periféricos (Bell, 1995; Ingvarsen & Andersen, 2000). Estas flutuações hormonais têm sido associadas à atividade do sistema imune inato, tal como menor desenvolvimento e atividade de neutrófilos (Kehrli et al., 1989a; Bouman et al., 2005; Wira et al., 2015). Ainda durante a gestação, os hormônios reprodutivos interferem na atividade celular, promovendo adaptações de longo prazo. A progesterona age sistemicamente suprimindo a atividade de células *natural killer* (linfócitos) e componentes específicos do sistema imune (Scheibl, 2000). No útero, a progesterona atua como imunossupressor reduzindo a migração de células polimorfonucleares, estimulando a síntese de proteínas imunossupressivas e reduzindo a migração de células inflamatórias, como forma prevenir o ataque do sistema imune à unidade fetoplacentária. Por outro lado, este hormônio também atua aumentando a concentração de leucócitos no sangue, a capacidade quimiotática, a citotoxicidade celular anticorpo-dependente dos leucócitos polimorfonucleares e a síntese dos reativos de intermediários de oxigênio (Kehrli et al., 1989b; Bouman et al., 2005). Entretanto, à

medida que o parto se aproxima, o aumento de glicocorticóides e estradiol interfere nestas respostas.

Durante a preparação para o parto, a maturação do eixo pituitária-adrenal do feto induz a produção do hormônio ACTH na hipófise estimulando a adrenal a sintetizar cortisol, o qual será responsável por mudanças locais e sistêmicas na gestante. Na placenta, o cortisol induz a síntese das enzimas 17α hidroxilase e aromatase, que desviam a produção de progesterona para estradiol, iniciando, respectivamente um gradual declínio e aumento destes hormônios até o parto (Flint et al., 1979). As concentrações plasmáticas totais de estradiol antes do parto podem ser até dez vezes maiores que durante o estro, o que por sua vez tem efeito supressor na função de neutrófilos (Comline et al., 1974). De forma sinérgica, o aumento do cortisol fetal também irá interferir nas funções dos neutrófilos afetando a atividade e o padrão de longevidade celular (Burton et al., 2005). Além disso, o cortisol induz a inibição da seleção endotelial, reduzindo a expressão de integrina; inibindo a emigração dentro do tecido, deprimindo a quimiotaxia e reduzindo a habilidade *killing* dos neutrófilos. Embora estas ações hormonais nas células de defesa façam parte de uma programação celular fisiológica, tem sido proposto que qualquer alteração no ambiente hormonal no pré-parto, pode influenciar diretamente nas células inflamatórias e consequentemente aumentar o risco de doenças infecciosas. Conforme demonstrado por Wischral et al. (2001), vacas com maiores concentrações de cortisol próximo ao parto tiveram retenção de envoltórios fetais, possivelmente relacionado a ação deste hormônio nos neutrófilos, os quais desempenham importante função na separação das

membranas na junção materno-fetal (Pathak et al., 2015). Ou seja, agentes estressores para a vaca leiteira, próximo ao parto, ou qualquer fator que interfira nas concentrações hormonais pré-parto podem predispor a vaca a maiores riscos de infecções sistêmicas, bem como a problemas reprodutivos (Challis et al., 2000).

Adaptações metabólicas e imunidade

A vaca leiteira depende principalmente de substratos gliconeogênicos como propionato, aminoácidos, glicerol e lactato para manter os níveis de glicose circulantes (Reynolds et al., 2003). Entretanto, durante o período de transição a baixa IMS reduz a disponibilidade destes substratos, determinando que rotas lipolíticas sejam acionadas a fim de fornecer substrato energético. Isto ocasiona um significativo aumento nas concentrações plasmáticas de ácidos graxos não esterificados (AGNE) circulantes. Os AGNE são um importante combustível para os tecidos, entretanto o excesso de mobilização pode resultar em acúmulo excessivo no fígado superando a capacidade deste órgão em oxidar este substrato. Como consequência há um acúmulo de acetil-CoA no hepatócito que é então desviado para cetogênese, aumentando desta forma a síntese e os níveis circulantes de β -hidroxi-butilato (BHB). Por sua vez, o aumento das concentrações sanguíneas de AGNE e BHB está relacionado ao risco de mastite clínica, deslocamento de abomaso, metrite e retenção de placenta (Ospina et al. 2010; Moyes et al. 2009). A relação de AGNE com inflamação foi avaliada em um estudo *in vitro*, no qual a expressão de mRNA citocinas

e moléculas de adesão em neutrófilos foram proporcionalmente aumentadas conforme foi aumentada a concentração de AGNE no meio de cultura celular (Contreras et al., 2012). Ou seja, um manejo nutricional errôneo no periparto, onde se estende e intensifica o BEN pode gerar consequências na continuidade e intensidade dos processos inflamatórios acarretando em maiores ocorrências de enfermidades. As CPIs têm efeitos negativos na IMS, o que pode levar ao agravamento do BEN, formando desta forma um ciclo entre inflamação e BEN desfavorável para função imune. A cronicidade nas altas concentrações dos AGNE circulantes, também modifica o perfil de ácidos graxos no sangue, que por sua vez alteram estruturalmente as membranas celulares de diferentes tecidos como adiposo, fígado, incluindo células de defesa (Douglas et al., 2007; Contreras et al., 2012). Tal condição pode interferir no metabolismo celular e padrão de resposta de células inflamatórias a agentes patogênicos.

Além dos efeitos já comentados da relação BEN e imunidade, alguns autores sugerem que as enfermidades no período de transição também estariam associadas ao maior desafio de endotoxinas e lipopolissacarídeos pela mudança da dieta no período de transição. Andersen et al. (1994) demonstraram que o aumento da inclusão de grão na dieta pode estar associado a um aumento de até 20 vezes a concentração de lipopolissacarídeos liberados no rúmen e na translocação de endotoxinas para dentro do sangue. Nesta condição, o fígado assume um papel centralizador para inativação destas toxinas, através da síntese de proteínas inespecíficas que desempenharão tal função (Ametaj et al., 2005). Portanto, qualquer sobrecarga hepática de

ordem metabólica, poderá enfraquecer as respostas inatas, aumentando ainda mais o desafio de células de defesa frente às endotoxinas e aos lipopolissacarídeos. Durante este processo, os macrófagos presentes no fígado (células de Küpffer) são responsáveis por identificar estas endotoxinas levando a liberação de CPIs, principalmente a IL-6 e TNF- α , as quais estimulam a produção de proteínas de fase aguda no hepatócito para neutralizar a substâncias agressoras. Por outro lado, ao mesmo tempo em que as CPIs, promovem a síntese e liberação de proteínas de fase aguda positiva (PFA+) como haptoglobina, amilóide A, proteína C-reativa e ceruloplasmina, a produção de outras proteínas como albumina, lipoproteínas, proteína de ligação do retinol e paraoxonase estarão reduzidas. A manutenção deste quadro devido ao agravamento do BEN e inflamação pode predispor o acúmulo de triglicerídeos no tecido hepático, influenciando ainda mais no estado geral do animal (Ametaj, 2005). O acúmulo de lipídeos no fígado ocorre quando há um aporte excessivo de ácido graxo no fígado (advindo da lipólise), superando a capacidade de oxidação. A alteração no tipo de proteínas a ser sintetizada pelo tecido hepático influencia na menor produção da proteína VLDL, que é utilizada para transporte do triacilglicerol excedente. Isto em parte, explicaria alguns achados que associam a doença do fígado gordo, com aumento de metrite, mastite e laminite em vacas leiteiras (Higgins & Anderson, 1983; Jorritsma et al., 2000; Zerbe et al., 2000). Com base nesta dinâmica do tipo de proteína a ser priorizada para síntese hepática, alguns autores propõem que as proteínas de fase aguda negativa (albumina, paraoxonase) poderiam ser utilizadas como marcadores, para monitorar a saúde de vacas no período

de transição (Bertoni et al., 2008; Schneider et al., 2013). Em um estudo retrospectivo, Schneider et al. (2013) observaram que vacas que desenvolveram endometrite no pós-parto, mostraram concentrações circulantes menores de albumina comparado com vacas saudáveis a 21 dias pré-parto. O mesmo estudo demonstrou que as concentrações sanguíneas de paraoxonase foram maiores entre vacas com endometrite e saudáveis, sete dias antes do parto. De forma similar, Bertoni et al. (2008) categorizaram vacas conforme a resposta inflamatória (alta ou baixa), segundo o perfil de proteínas de fase aguda ao parto e independentemente de seus sinais clínicos. Este estudo demonstrou que a inflamação no período de transição, pode ocorrer em vacas sem sinais clínicos (58% de vacas). Neste estudo também se evidenciou que a intensidade da inflamação foi correlacionada ao BEN mais grave, maior perda de escore de condição corporal e maiores concentrações plasmáticas de BHB. As vacas classificadas com inflamação “alta” apresentaram pior desempenho reprodutivo, com mais dias em aberto e maior número de inseminações. Trevisi et al. (2010) demonstraram que a inflamação sistêmica pode ocorrer em um nível subclínico, mas mesmo nesta forma é responsável em reduzir a eficiência produtiva em 15%. Segundo os autores, esta queda na produção estaria relacionada ao custo de energia na estruturação de uma resposta inflamatória somada ao maior dispêndio de energia para aumentar a temperatura corporal (efeito termogênico). Mesmo sem sinais evidentes, a saúde da vaca leiteira pode estar em risco, com consequências drásticas na produção e reprodução, tornando o monitoramento de marcadores mais sensíveis a inflamação

como as PFA, uma estratégia a ser explorada (Schneider et al., 2013; Krause et al. 2014)

Inflamação metabólica

Em contraste com a lactação, o período seco é caracterizado por grande oscilação entre ingestão de matéria seca e requerimentos nutricionais (Drackley, 1999). Em um período de 60 dias, a ingestão pode estar acima das necessidades diárias (anabolismo), no início deste período, ou abaixo das demandas momentos antes do parto. Fatores como o aumento do período seco e erros de manejo nutricionais no préparto, com níveis de energia acima do recomendado para o período, podem influenciar na maior ocorrência de doenças no pós-parto (Janovick & Drackley, 2010). Douglas et al. (2007) sugeriram que em ruminantes, como em humanos, o excesso de energia prolongada poderia provocar uma condição de síndrome metabólica, com inflamação associada. Neste sentido, Ji et al. (2014) demonstraram, que vacas que receberam uma dieta rica em energia no pré-parto, tiveram acúmulo de gordura em uma velocidade diferente no tecido adiposo visceral e subcutâneo. Este excedente de energia influenciou na ativação de vias de resposta inflamatória no tecido adiposo visceral, mas não no subcutâneo, demonstrando que embora não seja visível quanto ao ECC, algumas vacas poderiam estar suscetíveis a respostas inflamatórias exacerbadas (Janovick & Drackley 2010), ou expostas à chamada inflamação metabólica. A inflamação metabólica é um fenômeno diferente da inflamação clássica, pois não apresenta os sinais de calor,

dor, rubor, tumor, além de não aumentar o gasto energético basal. Por estas características é também conhecida como inflamação “fria”, uma vez que é orquestrada por estímulos nutricionais e metabólicos. A inflamação clássica é caracterizada “quente” devido a suas características iniciais, que são induzidas por patógenos, ferimentos e/ou qualquer corpo estranho ao organismo.

A descoberta de que CPI e fator de necrose tumoral (TNF- α) são secretados a partir do tecido adiposo, proporcionou uma identificação de diversos mediadores inflamatórios que são produzidos a partir de tecidos metabolicamente ativos e células imunes (Gregor & Hotamisligil, 2011; Olefsky & Glass, 2010). Desta forma, foi possível demonstrar a ligação entre obesidade, imunidade, alterações metabólicas e o desenvolvimento de resistência à insulina em humanos, o que mais recentemente também vem sendo proposto em vacas durante o periparto (Montgomery, 2014). Associada a um baixo grau de inflamação e uma cronicidade deste processo, esta condição predis põe a doenças do periparto (Ametaj et al., 2005). Conforme demonstrado em humanos, o gatilho para esta inflamação será um excedente de nutrientes e/ou uma atividade metabólica excessiva nos tecidos (Hotamisligil, 2006). Uma condição de estresse no tecido adiposo se estabelece, quando adipócitos sofrem hipertrofia e passam por hipóxia, o que pode ser transposta para vacas no periparto, em condições de excedente de energia. Logo após o parto, a abrupta queda na ingestão de matéria seca leva a intensa lipomobilização, que também seria responsável por uma condição de estresse no tecido adiposo de vacas lactantes. Embora o excedente de energia pela deposição de gordura visceral e subcutânea tenham

velocidades diferentes e o escore de condição corporal possa não refletir exatamente o estado metabólico do animal, do ponto de vista prático este índice ainda deve ser utilizado para prevenir uma lipólise intensa no pós-parto e doenças metabólicas e infecciosas subseqüentes. Entretanto, talvez a melhor forma de prevenir os danos da metainflamação no sistema imune é através de maior rigor no monitoramento da IMS e consequentemente do estabelecimento do balanço energético ideal para o período.

Cálcio e inflamação

Da mesma forma que os substratos energéticos, as exigências de cálcio são aumentadas drasticamente no início da lactação. Durante o parto, os processos fisiológicos que envolvem a preparação do canal do parto e expulsão do feto pelas contrações musculares, induzem uma queda nos níveis circulantes deste mineral, que são agravadas na primeira ordenha (Goff, 2008). Caso ocorra um atraso no acionamento dos mecanismos homeostáticos para aumentar a absorção intestinal, a resorção óssea e a reabsorção renal, a vaca poderá desenvolver hipocalcemia clínica, ou quando em menor intensidade, sua forma subclínica. Tem sido demonstrado que em rebanhos altamente tecnificados a hipocalcemia clínica possui uma incidência de 5-7% (Goff, 2008; Mulligan & Doherty, 2008), enquanto a forma subclínica demonstrou ter uma prevalência de 25-54%, dependendo do número de lactações (Reinhardt et al., 2011). O impacto desta doença na saúde dos rebanhos tem sido associado à diminuição da IMS, influenciado pela

baixa contratilidade do trato gastrointestinal induzindo e, desta forma, elevando um intenso BEN. A ocorrência da enfermidade está associada à retenção de placenta, prolapso do útero, deslocamento de abomaso (Chapinal et al., 2012), cetose (Kara, 2013) e redução no desempenho reprodutivo devido ao prolongamento do anestro pós-parto e secundariamente as metrites (Martinez et al., 2012). Entretanto, recentemente a forma em que os baixos níveis de cálcio influenciam na ocorrência destas enfermidades tem sido revista. A hipocalcemia afeta diretamente a imunidade inata reduzindo a atividade fagocitária das células imunes (Ducusin et al., 2003; Martinez et al., 2012). Desta forma, a resposta de células mononucleares, que estimula a ligação do antígeno, fica comprometida em vacas hipocalcêmicas (Kimura et al., 2006) favorecendo a instalação de doenças infecciosas de origem bacteriana, como a metrite (Martinez et al., 2012) e a mastite (Curtis et al., 1983). Assim como em outros tecidos, o Ca^{+2} atua nos linfócitos e células fagocíticas, como segundo mensageiro e, portanto uma diminuição nas suas concentrações no citosol, reduz a atividade celular facilitando a instalação de infecções. Por estes motivos, a prevenção da hipocalcemia mesmo em sua forma subclínica se tornou chave para redução de enfermidades infecciosas.

Considerações finais

Promover a melhora da imunidade de vacas leiteiras durante o periparto depende do entendimento dos muitos fatores desencadeantes dos processos inflamatórios, assim como das exigências nutricionais,

segundo cada estágio fisiológico do ciclo de produção (Van Knegsel et al., 2014). Eventos estressores, doenças metabólicas e infecciosas, traumas durante o parto, excesso ou déficit de energia e distúrbios digestivos são fatores que isoladamente, ou associados prejudicam o padrão de resposta imune, com grandes prejuízos para saúde da vaca leiteira e conseqüentemente para o sistema de produção. Nutricionalmente, alguns destes desafios podem ser parcialmente controlados. A utilização de rações que promovam o aumento de substratos glicogênicos e precursores lipogênicos, dieta aniônica no pré-parto, suplementos com micronutrientes e substâncias antioxidantes, podem ser úteis para melhorar as adaptações metabólicas no período de transição e conseqüentemente melhorar a saúde geral do rebanho (Van Knegsel et al., 2014). Além destas estratégias, tem sido proposta a utilização de produtos específicos para imunomodulação, como preventivos à imunossupressão no período de transição (Hassfurth et al., 2015). Algumas citocinas recombinantes, como o fator estimulador de colônia de granulócito (G-CSF) atuam diretamente nos neutrófilos aumentando a capacidade fagocitária e bactericida, tornando a imunidade inata mais competente (Kehrl et al., 1991). Embora estas tecnologias tragam bons resultados, é importante lembrar que a estruturação de uma resposta imune, depende de um grande aporte energético, que irá garantir o sucesso da resposta frente a patógenos. Portanto, mesmo com a utilização de imunomoduladores específicos, a imunidade é dependente de um equilíbrio metabólico. Apesar do surgimento de novas estratégias para promoção da saúde dos rebanhos leiteiros, o correto manejo nutricional, medidas promotoras de bem-estar

animal e a redução da pressão infectiva, ainda são os pilares para o bom funcionamento do sistema imune e redução de doenças.

Referências

- Ametaj, B.N. et al. 2005. Strong relationships between mediators of the acute phase response and fatty liver in dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science* 85, 165-175.
- Andersen, P.H. et al. 1994. Effect of feeding regimen on concentration of free endotoxin in ruminal fluid of cattle. *Journal of Animal Science* 72, 487-491.
- Bell, A.W. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science* 73, 2804-2819.
- Bertoni, G. et al. 2008. Effects of inflammatory conditions on liver activity in puerperium period and consequences for performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 91, 3300–3310.
- Bouman, A. et al. 2005. Sex hormones and the immune response in humans. *Human Reproduction Update* 11, 411-423.
- Bradford, B.J.; Yuan, K.2015. Inflammation in the transition dairy cow: adaptation or pathology?
- Disponível em:
<https://www.google.com.br/#q=Inflammation+in+the+transition+dairy+cow:+adaptation+or+pathology%3F>. Acesso: setembro 2015.
- Burton, J.L. et al. 2005. Gene expression signatures in neutrophils exposed to glucocorticoids: A new paradigm to help explain “neutrophil dysfunction” in parturient dairy cows. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 105, 197-219.
- Calamari L.L. et al. 2008. Preliminary study to develop a reference tool to validate the models of animal welfare assessment in dairy farms. In “Book of Abstracts 4th Int. Workshop on the Assessment of Animal Welfare at Farm and Group level”. (Ed P Koene) pp 7 (Ponsen and Looijen, Wageningen, The Netherlands).

- Challis, J.R. et al. 2009. Inflammation and Pregnancy. *Reproductive Sciences* 16, 206-215.
- Chapinal, N. et al. 2012. The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. *Journal of Dairy Science* 95, 1301-1309.
- Comline, R. S. et al. 1974. Parturition in the cow: Endocrine changes in animals with chronically implanted catheters in the foetal and maternal circulations. *Journal of Endocrinology* 63, 451-472.
- Contreras, G.A. et al. 2012. Nonesterified fatty acids modify inflammatory response and eicosanoid biosynthesis in bovine endothelial cells. *Journal of Dairy Science* 95, 5011-5023.
- Curtis, C.R. et al. 1983. Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 183, 559-561.
- Daha, M.R. 2011. Grand Challenges in Molecular Innate Immunity.” *Frontiers in Immunology*. doi:10.3389/fimmu.2011.00016.
- Douglas, G.N. et al. 2007. Prepartum Nutrition Alters Fatty Acid Composition in Plasma, Adipose Tissue, and Liver Lipids of Periparturient Dairy Cows . *Journal of Dairy Science* 90, 2941-2959.
- Drackley, J.K. 1999. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? *Journal of Dairy Science* 82, 2259-2273.
- Drackley, J.K. et al. 2005. Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. *Italian Journal of Animal Science* 4, 323-344.
- Ducusin, R.J.T. et al. 2003. Effects of extracellular Ca^{2+} on phagocytosis and intracellular Ca^{2+} concentrations in polymorphonuclear leukocytes of postpartum dairy cows. *Research in Veterinary Science* 75, 27-32.

- Flint, A.P.F. et al. 1979. The control of placental steroid synthesis at parturition in domestic animals. *Animal Reproduction Science* 2, 239-251.
- Goff, J.P. 2000. Pathophysiology of calcium and phosphorous disorders. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 16, 319-337.
- Goff, J.P. 2008. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Veterinary Journal* 176, 50-57.
- Gregor, M.F.; Gökhan, S. H. 2011. Inflammatory Mechanisms in Obesity. *Annual Review of Immunology* 29, 415-445.
- Hassfurther, R.L. et al. 2015. Efficacy of polyethylene glycol–conjugated bovine granulocyte colony-stimulating factor for reducing the incidence of naturally occurring clinical mastitis in periparturient dairy cows and heifers. *American Journal of Veterinary Research* 76, 231-238.
- Higgins, R. J.; Anderson, W.S. 1983. Fat cow syndrome in a British dairy herd. *The Veterinary Record* 113, 461-463.
- Hoeben, D. et al. 2000. Chemiluminescence of Bovine Polymorphonuclear Leucocytes during the Periparturient Period and Relation with Metabolic Markers and Bovine Pregnancy-Associated Glycoprotein. *Journal of Dairy Research* 67, 249–259.
- Hotamisligil, G.S. 2006. Inflammation and Metabolic Disorders, 444, December, 2006. doi:10.1038/nature05485.
- Ingvartsen, K.L.; Andersen, J.B. 2000. Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. *Journal of Dairy Science* 83, 1573-1597.
- Jorritsma, R. et al. 2000. Relationships between fatty liver and fertility and some periparturient diseases in commercial Dutch dairy herds. *Theriogenology* 54, 1065-1074.
- Janovick, N.A.; Drackley, J.K. 2010. Parturition Dietary Management of Energy Intake Affects Postpartum Intake and Lactation

- Performance by Primiparous and Multiparous Holstein Cows. *Journal of Dairy Science* 93, 3086–3102.
- Ji, P. et al. 2013. Overfeeding Energy Upregulates Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR) γ Controlled Adipogenic and Lipolytic Gene Networks but Does Not Affect Proinflammatory Markers in Visceral and Subcutaneous Adipose Depots of Holstein Cows. *Journal of Dairy Science* 97, 3431–3440.
- Kara, Ç., Orman, A., Udum, D. et al. 2009. Effects of calcium propionate by different numbers of applications in first week postpartum of dairy cows on hypocalcemia, milk production and reproductive disorders. *Journal of Animal Science* 8, 259-270.
- Kehrli, M.E. Jr., Nonnecke, B.J., Roth, J.A. 1989a. Alterations in bovine neutrophil function during the periparturient period. *Am. J. Vet. Res.* 50, 207- 214.
- Kehrli, M.E. Jr. et al. 1989b. Alterations in bovine lymphocyte function during the periparturient period. *Am. J. Vet. Res.* 50, 215- 220.
- Kehrli, M.E. et al. 1991. Effects of granulocyte colony-stimulating factor administration to periparturient cows on neutrophils and bacterial shedding. *Journal of Dairy Science* 74, 2448-2458.
- Kimura, K. et al. 2006. Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 89, 2588-2595.
- Krause, A.R.T. et al. 2014. 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* 145, 8–14.
- Lean, I.J. et al. 2006. Hypocalcemia in Dairy Cows: Meta-analysis and Dietary Cation Anion Difference Theory Revisited. *Journal of Dairy Science* 89, 669-684.

- Luster, AD. et al. 2005. Immune Cell Migration in Inflammation: Present and Future Therapeutic Targets. *Nature Immunology* 6, 1182–1190.
- Martinez, N. et al. 2012. 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* 95, 71587172.
- Medzhitov, R. 2008. Origin and Physiological Roles of Inflammation. *Nature* 454, 428–435.
- Meglia, G.E. et al. 2005. Effects of feeding intensity during the dry period on leukocyte and lymphocyte sub-populations, neutrophil function and health in periparturient dairy cows. *The Veterinary Journal* 169, 376-384.
- Piccinini, A.M. et al. 2010. DAMPening inflammation by modulating TLR signalling. *Mediators of Inflammation* Article: ID672395.
- Montgomery, S. 2014. The effect of the anti-inflammatory drug sodium salicylate in mature periparturient dairy cattle and immortalized bovine mammary epithelial (MAC-T) cells. Tese de Doutorado. Kansas State University.
- Moyes, K.M. et al. 2009. Identification of Potential Markers in Blood for the Development of Subclinical and Clinical Mastitis in Dairy Cattle at Parturition and during Early Lactation. *Journal of Dairy Science*.92, 5419–528.
- Mulligan, F.J.; Doherty, M.L. 2008. Production diseases of the transition cow. *The Veterinary Journal* 176, 3-9.
- Olefsky, J. M.; Christopher, K. G. 2010. Macrophages, Inflammation, and Insulin Resistance. *Annual Review of Physiology* 72, 219–246.
- Ospina, P.A. et al. 2010. Evaluation of Nonesterified Fatty Acids and B-Hydroxybutyrate in Transition Dairy Cattle in the Northeastern United States: Critical Thresholds for Prediction of Clinical Diseases. *Journal of Dairy Science* 93, 546-554.

- Pathak, R. et al. 2015. Alterations in cortisol concentrations and expression of certain genes associated with neutrophil functions in cows developing retention of fetal membranes. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. In press (sept).
- Reinhardt, A. et al. 2011 Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *The Veterinary Journal* 188, 122-124.
- Reynolds, C.K. et al. 2003. Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. *Journal of Dairy Science* 86, 1201-1217.
- Scheibl, P.; Zerbe, H. 2000. Effect of progesterone on the immune system in consideration of bovine placental retention. *Dtsch. Tierarztl. Wochensch.* 107, 221-227.
- Schneider, A.; Correa, M.N.; Butler, W.R. 2013. Acute phase proteins in Holstein cows diagnosed with uterine infection. *Research in Veterinary Science* 95, 269-271.
- Sordillo, L.M.; Stacey, L.A. 2009. Impact of Oxidative Stress on the Health and Immune Function of Dairy Cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 128, 104–109.
- Ster, C. et al. 2012. Effect of Postcalving Serum Nonesterified Fatty Acids Concentration on the Functionality of Bovine Immune Cells. *Journal of Dairy Science* 95, 708–717.
- Trevisi, E. et al. 2010. Blood and Milk Immune and Inflammatory Profiles in Periparturient Dairy Cows Showing a Different Liver Activity Index. *Journal of Dairy Research* 77, 310–317.
- Van Knegsel, A.T.M. et al. 2014. Metabolic adaptation during early lactation: key to cow health, longevity and a sustainable dairy production chain. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources* 9, 15.
- Wira, C.R. et al. 2015. The role of sex hormones in immune protection of the female reproductive tract. *Nature Reviews Immunology*. In press (sept).

- Wischral, A. et al. 2001. Pre-parturition profile of steroids and prostaglandin in cows with or without foetal membrane retention. *Animal Reproduction Science* 67, 181-188.
- Zerbe, H. et al. 2000. Altered functional and immunophenotypical properties of neutrophilic granulocytes in postpartum cows associated with fatty liver. *Theriogenology* 54, 771-786.

Fundamentos y aplicaciones para la alimentación proteica de vacas lecheras⁷

Cecilia Cajarville

Universidad de La República

Introducción

La vaca lechera, y de manera más general, los rumiantes, poseen características digestivas que hacen que el aprovechamiento de las proteínas de la dieta sea sustancialmente distinto que en la mayoría de los animales. Los animales monogástricos y los humanos digieren la proteína que consumen mediante enzimas presentes en el estómago y en el intestino delgado. De esta forma, convierten la cadena proteica en subunidades más simples, los aminoácidos, que son absorbidos en el intestino y son las unidades básicas que contribuyen a formar la nueva proteína, que el animal utilizará para distintas funciones. Las enzimas presentes en el tubo digestivo de los rumiantes son básicamente las mismas que en los monogástricos. El rumiante también absorbe aminoácidos provenientes de la proteína digerida en el intestino, y éstos son las unidades básicas para la formación de su propia proteína. Sin embargo, el rumen, compartimento que retiene el flujo de los alimentos y que determina que todo lo que ingresa al aparato digestivo sea

⁷ Cajarville, C. 2015. Fundamentos y aplicaciones para la alimentación proteica de vacas lecheras. II Simpósio Nacional da Vaca Leiteira. Anais. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 185-199.

sometido, en primer lugar, a un proceso de fermentación, determina que las características de la digestión proteica sean radicalmente diferentes en los rumiantes. En el compartimento ruminal se desarrolla una población microbiana (microbiota) que mantiene con el rumiante una relación simbiótica y que le proporciona la oportunidad de digerir la fibra de los alimentos. La microbiota ruminal es, en sí misma, la principal fuente de proteína de alta calidad para los rumiantes. Una de sus características es la diversidad, y está representada por bacterias (alrededor de 10^{10} UFC/ml) con más de 50 géneros, arqueas (10^7 - 10^9 UFC/mL), protozoos (10^4 - 10^6 /mL), hongos (10^3 - 10^5 zoosporas/mL) y bacteriófagos (10^8 - 10^9 /mL) (Kamra, 2005). El pasaje de las proteínas ingeridas por el rumen hace que éstas sean sometidas a la acción de la microbiota, modificando sustancialmente su estructura y determinando que la alimentación proteica de los rumiantes se realice sobre bases singulares (Figura 1). La digestión de las proteínas en los rumiantes, incluye no sólo procesos de degradación, sino también de formación de compuestos nuevos y síntesis. Conocer estos procesos es útil para manipular la alimentación proteica de los rumiantes, por lo que a continuación nos centraremos con más detalle en cada uno de ellos.

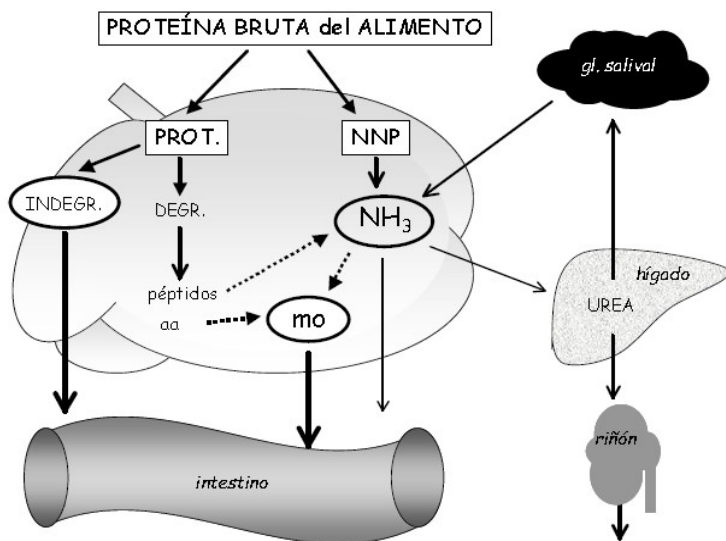


Figura 1. Esquema de la digestión de las proteínas por los rumiantes

Degradación de las proteínas en el rumen

Gran parte de la proteína que ingiere el rumiante se degrada a péptidos por acción de las proteasas microbianas. La porción de proteína que no sufrió el ataque de los microorganismos, seguirá su trayecto hasta el intestino delgado, donde será atacada por las enzimas del animal, desdoblada hasta aminoácidos que serán absorbidos y utilizados para formar las proteínas del animal y de los productos como la leche. Esta proteína es denominada proteína de pasaje (*by-pass*). La cantidad de proteína de pasaje que proporciona un alimento depende del tipo de proteína. Hay proteínas naturalmente más resistentes a la degradación

como las del maíz (zeína) y también la degradación depende de los tratamientos a los que haya sido sometida esa proteína (Van Soest, 1994). En general, los tratamientos térmicos (calor) que se realizan sobre los alimentos tienden a disminuir su degradación en el rumen. A modo de ejemplo, las harinas animales, como la harina de pescado, tienen baja degradabilidad ruminal, debido al tratamiento térmico recibido durante su elaboración (FEDNA, 2010), por lo que se las considera una buena fuente de proteína de pasaje para los rumiantes. La proteína que se degrada, lo hace primeramente a péptidos, que a su vez se catabolizan formando aminoácidos libres. Esta degradación continúa y los microorganismos desagregan los aminoácidos hasta amoníaco, ácidos grasos y CO₂. El amoníaco formado es utilizado por la población microbiana para sintetizar sus propias proteínas, aunque como se verá luego, para que esta síntesis se produzca debe existir suficiente energía (carbonos), que en general es aportada por carbohidratos. El amoníaco que no es captado por los microorganismos se absorbe por las paredes del rumen, va al hígado y ahí es transformado en urea. A su vez, parte de esa urea volverá al rumen a través principalmente de la saliva y la que no se recicla se elimina por la orina y la leche. En nuestras latitudes, gran parte de la producción lechera se realiza sobre pastoreo de praderas de gramíneas y leguminosas de clima templado. Cuando son consumidas en el momento óptimo, tienen una composición química caracterizada por niveles altos de proteína cruda (15-20%) y de fibras digestibles (alrededor de 40 % de FND), pero que son de degradación relativamente lenta, y niveles de carbohidratos de degradación rápida (azúcares) no muy altos (de 3-10%) (Sauvant et al., 1995; Cajarville et al., 2007;

Cajarville et al., 2015). A su vez, la proteína de estos forrajes, es altamente soluble y de muy rápida degradación (Sauvant et al., 1995; Cohen, 2001; Repetto et al., 2005), dando como resultado altas concentraciones instantáneas de amonio en el rumen (Figura 2), que en buena parte son desaprovechadas y se excretan por orina y leche. Debido a este desperdicio, actualmente se trabaja en la disminución de la degradación de los componentes nitrogenados de las pasturas de alta calidad mediante el uso de compuestos como los taninos (Kozloski et al., 2012). La alta degradación en rumen de los compuestos nitrogenados de las pasturas hace que en los sistemas pastoriles, o con altas ingestas de forrajes de buena calidad, sea muy habitual observar altas concentraciones de urea en la leche de las vacas, sin que ello implique la necesidad de ajustar las dietas.

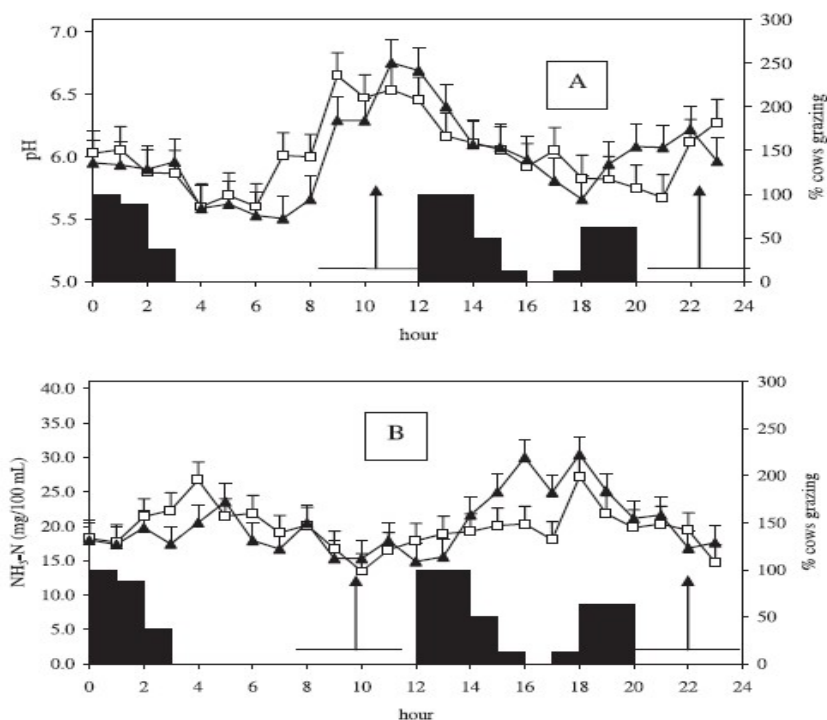


Figura 2. Evolución del pH (A) y del amoníaco ruminal (B) a lo largo del día en vacas en praderas templadas, suplementadas con trigo (cuadrados abiertos) o maíz (triángulos negros) (medias \pm error estándar). Las áreas en negro representan la proporción de vacas pastoreando luego del período de confinamiento (suplementación). Las flechas indican el momento de la suplementación; las líneas bajo las flechas indican los períodos de confinamiento (Cajarville et al., 2006a)

Debido a este proceso de degradación hasta amoníaco, y la posibilidad de utilización de los microorganismos de este compuesto, es que es conocida la habilidad de los rumiantes para aprovechar como fuentes para la síntesis proteica materias nitrogenadas (MN) que no sean proteínas verdaderas, es decir, fuentes de nitrógeno no proteico (NNP).

El ejemplo más conocido en este sentido es el uso de urea en las dietas como suplemento “proteico”. En el rumen, la molécula de urea se desdobra muy rápidamente hasta amoníaco, y si no está acompañada por carbohidratos de rápida fermentación (que aporten las cadenas carbonadas para la síntesis microbiana) o es suministrada en exceso, la rápida absorción del amoníaco a través de las paredes del rumen representa un potencial peligro de intoxicación para el animal.

Transformación de los compuestos nitrogenados en proteína microbiana

La masa microbiana que pasa junto con el bolo alimenticio a los tramos posteriores del aparato digestivo, constituye el principal aporte de proteínas para el rumiante. Esta masa microbiana contiene aproximadamente 50% de MN de las cuales el 80% se encuentra bajo forma de proteína. La optimización en el crecimiento de la masa microbiana es uno de los factores que deben preocupar al nutricionista. El término *optimización de la masa microbiana* formada en el rumen implica dos conceptos:

1. Producción microbiana. Indica la generación de microorganismos en términos de cantidades diarias. Se refiere a kg de masa microbiana (N microbiano) formado en el rumen por día. Es variable con el tipo de animal, tamaño del rumen, cantidad de alimento consumido, etc.
2. Eficiencia de producción de proteína microbiana. Se refiere a la cantidad de microorganismos generados por unidad de alimento. Se

expresa de diferentes formas: masa microbiana (N microbiano) en función de la materia seca ingerida, de la materia orgánica (MO) ingerida, o de la MO digerida o fermentada en el rumen (MODR o MOF, respectivamente).

Ambos conceptos son importantes, pero si se trata de evaluar la efectividad de un alimento o una dieta para proveer proteína microbiana, consideramos indicado trabajar en base a la eficiencia de producción de proteína microbiana. Stern et al. (1994) calcularon la contribución teórica de la proteína microbiana al total de la proteína que llega al duodeno según la eficacia de síntesis. Cuando la eficacia de síntesis es baja, del orden de 20 g de N/kg de materia orgánica verdaderamente fermentada en rumen (MOVF), la proteína microbiana puede cubrir cerca del 50% de las necesidades proteicas de una vaca de 600 kg produciendo 25 litros de leche con 4% de grasa. Sin embargo, si la eficacia de síntesis fuera elevada (40 g N/kg MOVF) la proteína microbiana podría llegar a cubrir un 98% de las necesidades proteicas del mismo animal. Por esta razón, las estrategias de alimentación en rumiantes actualmente tienden a optimizar la producción microbiana a nivel ruminal (Shingoethe, 1996a; NRC, 2001). Para lograr la máxima eficiencia, el aporte de nutrientes para los microorganismos, especialmente materias nitrogenadas y carbohidratos (o más genéricamente materia orgánica fermentable en el rumen), debe ser el necesario (Russell et al., 1992; Clark et al, 1992). Además, y aunque algunos autores ponen en duda la posibilidad de manejar este concepto en las dietas (Valkeners et al., 2006; Hall y Huntington, 2008), carbohidratos y materias nitrogenadas deberían estar disponibles en el

rumen en forma sincrónica, es decir, a la vez. Teóricamente, proporcionando a la microbiota ruminal las fuentes de proteína y energía en forma simultánea y en las cantidades requeridas, se lograría el máximo crecimiento microbiano y por lo tanto, el mayor aporte de nutrientes para el animal.

Las materias nitrogenadas para los microorganismos ruminales provienen de la proteína y del NNP de los alimentos que son degradados en el rumen, además de la urea re-circulante que ingresa por vía sanguínea o por la saliva. No aportan al crecimiento microbiano la proteína indigestible (como la unida a la lignina o a algunos tipos de taninos) ni tampoco la proteína de pasaje (Van Soest, 1994). Es necesario puntualizar, que no todos los compuestos que tienen valor nutricional para el rumiante, son igualmente útiles para los microorganismos. La materia orgánica utilizable por estos últimos, es la que tiene capacidad de ser fermentada en el rumen (materia orgánica fermentable o fermentescible: MOF). Las paredes celulares, el almidón y la proteína degradable en el rumen, junto con los azúcares, son fuente de energía fermentescible formando MOF. Otros compuestos, a pesar de ser muy energéticos para el animal, como los lípidos, ácidos orgánicos o el almidón no degradable en rumen, así como la proteína no degradable, no forman parte de la MOF. Debido a su baja fermentación ruminal, poco aportan para el crecimiento microbiano. Como se desprende de lo anterior, la síntesis de proteína microbiana depende mucho de las cantidades de MOF en el rumen. Ello hace que el nutricionista deba moverse en el difícil equilibrio entre salud y enfermedad, considerando que altos niveles de MOF en el rumen siempre implican riesgo de

aparición de acidosis. De hecho, revisiones de trabajos publicados, reportan que las mayores síntesis de proteína microbiana se observan a niveles de pH ruminal relativamente bajos, incluso menores a 6,0 (Bach et al., 2005). Por otra parte, la fuente de carbohidrato y la cinética de su disponibilidad en el rumen, son factores determinantes en el logro de la sincronización de nutrientes (Lee et al., 2003). En este sentido, la disponibilidad de energía a nivel ruminal puede ser muy distinta según la fuente de carbohidrato de que se trate, debido a las diferentes velocidades de fermentación. La velocidad es muy rápida para los solubles como los azúcares y muy lenta para los estructurales como la celulosa. En general, se acepta que una rápida disponibilidad de energía a partir de carbohidratos es clave para lograr el crecimiento de la masa microbiana (Henning et al, 1991). Sin embargo, hasta el momento, los modelos de predicción de respuestas que se utilizan para la formulación de dietas (NRC, 2001) son relativamente insensibles a cambios en las cinéticas de degradación de los carbohidratos (Hall, 2004). De todas formas, más allá de las cinéticas de degradación *per se* de los carbohidratos, existen otros factores como el pH ruminal, la cantidad de concentrado suministrado, o la combinación de compuestos que modifican la cinética de degradación del almidón y de los carbohidratos no amiláceos (Huntington, 1997). Todos estos aspectos deben ser considerados ya que muchas veces son los que hacen los resultados no sean los previstos cuando se formula una dieta. Las cantidades de energía y N disponible en el rumen son los dos factores principales, pero no los únicos. Otros factores, como la disponibilidad de minerales, sobre todo azufre, de oligoelementos y de vitaminas intervienen también.

Adicionalmente, en la actualidad se le da especial importancia a alimentación con fuentes de proteína verdadera, dado que se ha demostrado que los microorganismos necesitan de algunos aminoácidos y péptidos pre-formados para un mejor desarrollo (Broderick y Reynal, 2009).

Digestión y absorción intestinal de la proteína

La proteína que llega al duodeno de un rumiante es principalmente la suma de la proteína microbiana y la proteína de origen alimenticio que no ha sufrido degradación a nivel ruminal. La digestión en el abomaso y en el intestino delgado, es muy similar a la de los monogástricos. Las proteínas son hidrolizadas por enzimas pancreáticas en péptidos, y posteriormente en oligopéptidos y aminoácidos. La absorción se realiza bajo forma de aminoácidos en el intestino delgado. Esta digestión no es total, y una parte de las proteínas alimenticias y microbianas que escapa a la misma pasa directamente a las heces. En el intestino grueso las proteínas se degradan poco, ya que las bacterias del intestino grueso utilizan principalmente la urea endógena para la síntesis de sus proteínas. En este paso es que surge el concepto de Proteína Metabolizable, que emplean varios sistemas de alimentación de los rumiantes. De acuerdo con el NRC (2001), la Proteína Metabolizable es la proteína digerida luego del rumen, cuyos aminoácidos son absorbidos en el intestino. Está compuesta por la sumatoria de la proteína microbiana digestible (más abundante), la proteína de pasaje digestible, y una porción minoritaria compuesta por proteína endógena, proveniente de proteínas de

descamación y enzimas. Un aspecto a destacar, es que mientras que el valor biológico de la proteína de origen alimenticio que llega al duodeno es muy variable, la composición en aminoácidos de la proteína de origen microbiano es muy estable y de muy alta calidad (Schingoethe, 1996b). Así, el contenido en lisina y metionina de los cuerpos microbianos es casi tan alto como el de la carne o el pescado, por lo que la proteína microbiana se encuentra dentro de las proteínas de mejor calidad (Verité y Peyraud, 1990). Esta alta digestibilidad y excelente perfil aminoacídico es otra razón por la que el nutricionista debe intentar, mediante el manejo de la alimentación, maximizar el aporte de proteína microbiana al duodeno. La herramienta principal para ello será el logro de un buen funcionamiento del rumen, considerando todos los aspectos que tiendan a mejorar la síntesis de proteína microbiana.

Para concluir

A modo de resumen, es conveniente recordar que la síntesis de proteína microbiana en el rumen es el mecanismo que permite la generación de proteína de alta calidad y la optimización en el uso de los recursos nitrogenados por la vaca lechera, y por los rumiantes en general. Por esta razón es que como nutricionistas nos interesa lograr altos niveles y eficiencias de síntesis. Lo anterior se logrará manteniendo el ecosistema ruminal funcionando al máximo, especialmente en lo que refiere al mantenimiento de niveles adecuados de nitrógeno y de materia orgánica fermentable.

Referencias

- Bach A., Calsamiglia S., Stern M. 2005. Nitrogen Metabolism in the Rumen. *Journal of Dairy Sci.* 88, ESupplement, E9-E21.
- Broderick G., Reynal S. 2009. Effect of Source of Rumen-Degraded Protein on Production and Ruminal Metabolism in Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Sci.* 92, 2822-2834.
- Cajarville C., Aguerre M., Repetto J.L. 2006a. Rumen pH, NH₃-N concentration and forage degradation kinetics of cows grazing temperate pastures and supplemented with different sources of grain. *Animal Research.* 55, 511-520.
- Cajarville C., Pérez A., Aguerre M., Britos A., Repetto J.L. 2006b. Effect of the timing of cut on ruminal environment of lambs consuming temperate pastures. *Journal of Dairy Science* 89, Suppl. 1, 103.
- Cajarville C., Britos A., Caramelli A., Antúnez M., Zanoniani R., Boggiano P., Repetto J.L. 2007. El horario de corte y el tipo de metabolismo fotosintético afectan la relación azúcares/nitrógeno de las pasturas. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* 15 Supl. 1, 408-409.
- Cajarville C., Britos A., Errandonea N., Gutiérrez L., Cozzolino D., Repetto J.L. 2015. Diurnal changes in water-soluble carbohydrate concentration in lucerne and tall fescue in autumn and the effects on in vitro fermentation. *New Zealand Journal of Agricultural Research.* DOI: 10.1080/00288233.2015.1018391.
- Clark J.H., Klusmeyer T.H., Cameron M.R. 1992. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 75, 2304.
- Cohen D.C. 2001. Degradability of crude protein from clover herbage used in irrigated dairy production systems in Northern Victoria. *Australian Journal of Agricultural Research.* 52, 415-425.
- FEDNA. 2010. Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos (3^o ed). C. de

- Blas, G.G. Mateos, P.G. Rebollar. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Madrid, 502 p.
- Hall M.B. 2004. Effect of carbohydrate fermentation rate on estimates of mass fermented and milk response. *Journal of Dairy Science* 87, 1455-1456.
- Hall M.B., Huntington G.B. 2008. Nutrient synchrony: Sound in theory, elusive in practice. *Journal of Animal Science* 86 (E. Suppl.), E287-E292.
- Henning, P.H., Steyn D.G., Meissner. 1991. The effect of energy and nitrogen supply patterns on rumen bacterial growth in vitro. *Animal Production* 53, 165-175.
- Huntington G. B. 1997. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. *Journal of Animal Science* 75, 852-867.
- Kamra, D.N. 2005. Rumen microbial ecosystem. *Current Science* 89,124-135.
- Kozloski G.V., Härter C.J., Hentz, F., de Avila S.C., Orlandi T., Stefanello, C.M. 2012. Intake, digestibility and nutrients supply to wethers fed ryegrass and intraruminally infused with levels of *Acacia mearnsii* tannin extract. *Small Ruminant Research* 106, 125-130.
- Lee M.R.F., Merry R.J., Davies D.R., Moorby J.M., Humphreys M.O., Theodorou M.K., MacRae J.C., Scollan N.D. 2003. Effect of increasing availability of water-soluble carbohydrates on in vitro rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology* 104, 59-70.
- NRC. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle: 7th Revised Edition*, 2001. National Academy Press, Washington, DC.
- Repetto J.L., Cajarville C., D'Alessandro J., Curbelo A., Soto C., Garín D. 2005. Effect of wilting and ensiling on ruminal degradability of temperate grass and legume mixtures. *Animal Research* 54, 7380.
- Russell J. B., O'Connor J. D., Fox D. G., Van Soest P. J., Sniffen C. J.. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle

- diets: I. Ruminal fermentation. *Journal of Animal Science* 70, 3551-3561.
- Sauvant D., Grenet E., M-Doreau B. 1995. Dégradation chimique des aliments dans le réticulo-rumen: cinétique et importance. En: *Nutrition des ruminants domestiques*. Ed. INRA, Paris.
- Schingoethe D.J. 1996a. Balancing the amino acids needs of dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 60, 153.
- Schingoethe D.J. 1996b. Dietary influence on protein level in milk and milk yield in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 60, 181.
- Stern M.D. Calsamiglia S., Endres M.I. 1994. Dinámica del metabolismo de los hidratos de carbono y del nitrógeno en el rumen. En: *Nuevos sistemas de valoración de alimentos y programas alimenticios para especies domésticas*. Ed. FEDNA, Madrid.
- Valkeners D., Thewis A., Amant S., Beckers Y. 2006. Effect of various levels of imbalance between energy and nitrogen release in the rumen on microbial protein synthesis and nitrogen metabolism in growing double-muscled Belgian Blue bulls fed a corn silage-based diet. *Journal of Animal Science* 84, 877–885.
- Van Soest P. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant* (2nd edition). Cornell University Press, NY, USA.
- Verité R., Peyraud J.L. 1990. Nutrición Nitrogenada. En: *Alimentación de bovinos, ovinos y caprinos*. Ed. INRA.

Cetose clínica e subclínica: manejo, diagnóstico e efeitos no leite⁸

Marcio Nunes Corrêa

Camila Pizoni

Joabel Tonellotto dos Santos

Patrícia Mattei

Rafael da Fonseca Prietsch

Uriel Secco Londero

Universidade Federal de Pelotas

Introdução

Durante os últimos anos a produção de leite por vaca apresentou um aumento substancial, resultado do aprimoramento das técnicas de seleção genética, melhora da nutrição e práticas de manejo (Espósito et al., 2014). Entretanto, esse aumento trouxe também como consequência uma maior ocorrência de transtornos metabólicos, que são mais frequentes durante o período de transição, compreendido entre as três semanas pré e as três semanas pós-parto (Drackley, 1999; Chapinal et al., 2011). Dentre os transtornos metabólicos destaca-se a cetose, podendo se apresentar na forma subclínica ou clínica principalmente entre a segunda e a sétima semana de lactação (Gonzalez et al., 2014). Essa enfermidade pode ser definida como um desequilíbrio entre

⁸ Correa, M.N., Pizoni, C., dos Santos, J.T., Mattei, P., Prietsch, R.F., Londero, U.S. 2015. Cetose clínica e subclínica: manejo, diagnóstico e efeitos no leite. II Simpósio Nacional da Vaca Leiteira. Anais. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 200-220.

demanda energética e mobilização de gordura, levando a um aumento da concentração de corpos cetônicos a níveis tóxicos nos fluidos corporais (Garro et al., 2014). Sua incidência pode variar de 26 a 60% para a forma subclínica (Simensen et al., 1990; Duffield et al., 1998; McArt et al., 2012a) e de 2 a 34% para a clínica (Duffield, 2000; Gonzalez et al., 2014), pois sua ocorrência depende de diversos fatores, como nível de produção, manejo, número de lactações e escore de condição corporal (ECC) ao parto (Nielen et al., 1994; Duffield et al., 2009). As altas taxas de incidência, aliadas ao período de maior ocorrência da cetose fazem com que a enfermidade apresente um considerável interesse econômico, não apenas pelos gastos decorrentes do tratamento mas por perdas na produção leiteira e pela predisposição a outros transtornos (Duffield et al., 2009; Ospina et al., 2010). Vacas que desenvolvem a doença na forma subclínica na primeira semana de lactação apresentam um risco 6 vezes maior de desenvolver deslocamento de abomaso, 4,5 vezes mais chance de serem descartadas do rebanho e produzem 2,2 kg de leite a menos por dia nos primeiros trinta dias em lactação (DEL) (McArt et al., 2012a). Vacas com quatro lactações ou mais são as mais atingidas pelo transtorno, com perdas na produção leiteira que chegam a 353,4 kg de leite por lactação (Rajala-Schultz et al., 1999). A manutenção da saúde e da produtividade de vacas leiteiras no período de transição é uma tarefa desafiadora. Para cumprir com esse objetivo é necessário compreender os eventos metabólicos que caracterizam esta fase e suas implicações. Diante desta problemática, serão abordados alguns tópicos relacionados ao metabolismo da cetose, métodos diagnósticos e implicações no leite, a

fim de disponibilizar informações que possam ser utilizadas para uma melhor compreensão, prevenção e o tratamento do transtorno.

Metabolismo energético e lipídico durante o período de transição e sua relação com a cetose

A transição do final da gestação ao início da lactação é um período extremamente dinâmico para a vaca leiteira (McArt et al., 2013). As três semanas que antecedem o parto são marcadas por um decréscimo de até 30% da ingestão de matéria seca (IMS), limitando a ingestão de energia (Hayirli et al., 2002). Com o início da lactação e rápido aumento da produção de leite após o parto, os requerimentos de proteínas, ácidos graxos e aminoácidos aumentam cerca de 2 a 5 vezes (Bell, 1995; Bertoni et al., 2009), devido ao direcionamento desses nutrientes para a glândula mamária, em detrimento de outros tecidos (Lor et al., 2013). Entretanto, o organismo da vaca não é capaz de suprir essa alta demanda o que conduz a um desequilíbrio energético denominado balanço energético negativo (BEN) (Drackley, 1999). O déficit energético leva à mobilização de reservas corporais induzindo a lipólise, que ocasiona a liberação de ácidos graxos não esterificados (AGNE) no sangue (Chapinal et al., 2012). Cerca de 15 a 20% desses AGNE são removidos pelo fígado (Drackley & Andersen, 2006), onde poderão seguir três destinos: (1) oxidação completa para fornecer energia ao próprio fígado, (2) oxidação incompleta para produção de corpos cetônicos, que serão liberados no sangue para prover energia a outros tecidos e (3) reconversão a triglicerídeos (TAG) para armazenamento no tecido adiposo (Lor et al., 2013; McArt et al., 2013). Assim, vacas que

apresentam um BEN intenso, com uma alta taxa de lipomobilização experimentam uma excessiva produção de AGNE e corpos cetônicos, predispondo o animal a quadros de esteatose hepática e cetose (Lor et al., 2013).

Numa condição de hipoglicemia, como ocorre durante o parto, a carência de propionato (principal precursor gliconeogênico) induz a uma alta taxa de lipomobilização e uma alta produção de acetil coenzima A (acetil-CoA), metabólito final da oxidação completa dos AGNE. Essa produção excessiva do acetil-CoA supera a capacidade de sua utilização pelo Ciclo de Krebs para a produção de energia, aumentando também a demanda de oxalacetato, que deve ser condensado ao acetil-CoA para poder entrar no ciclo (Andrew et al., 2012). O resultado deste acúmulo é o desvio do acetil-CoA para a produção de corpos cetônicos, dos quais os principais são acetoacetato, acetona e beta-hidroxiacetato (BHA) (Gonzalez & Silva, 2006). O acetoacetato é o primeiro corpo cetônico, que apresenta elevada instabilidade reativa (Duffield, 2000) e é então reduzido pela β -hidroxiacetato desidrogenase a BHA (Andrew et al., 2012). A acetona é produzida em menores quantidades, e por ser volátil e tóxica para o organismo, é excretada (Gonzalez et al., 2014). Assim, o papel principal dos corpos cetônicos é a transferência da energia derivada dos lipídeos do fígado para tecidos periféricos, para suprirem as demandas energéticas não atendidas pela falta da glicose (Andrew et al., 2012). Contudo, quando os níveis de corpos cetônicos no sangue ultrapassam a capacidade de utilização por esses tecidos ocorre acúmulo, que é tóxico

em determinados níveis, ocasionando um quadro de cetose clínica ou subclínica (Risco, 1992; Duffield et al., 2009).

Em relação à etiologia, se reconhece a incidência da cetose como três diferentes síndromes. A cetose tipo I ou espontânea ocorre quando a demanda de glicose supera a capacidade de síntese pelo fígado através da gliconeogênese, mesmo quando esse mecanismo está ativado ao máximo, e acomete vacas de alta produção. O quadro é caracterizado por hipoglicemia seguida de lipólise, ocasionando um aumento nos níveis séricos de corpos cetônicos, mas sem ocasionar a deposição lipídica no fígado (Herdt, 2000). A cetose tipo II ocorre quando grandes quantidades de AGNE são depositados no fígado, interferindo na capacidade máxima da neoglicogênese hepática. Neste quadro, a glicemia não é tão baixa quanto na cetose tipo I e está também associada à elevação das cetonas sanguíneas (Holtenius & Holtenius, 1996). Por fim, a cetose alimentar ou toxicose butírica ocorre pela ingestão de silagem de má qualidade, com excesso de butirato ou pelo feno mal conservado e em decomposição, pela proliferação de fungos (Radostits et al. 2007).

Diagnóstico de cetose

Em rebanhos leiteiros a cetose é um dos principais transtornos metabólicos do pós-parto recente, podendo ser dividida na forma clínica e subclínica, sendo a última a que ocasiona as maiores perdas econômicas. Diante disso, seu diagnóstico se torna crucial para minimizar os impactos negativos nos sistemas de produção. Para um

diagnóstico satisfatório de cetose clínica é essencial saber identificar seus sinais, que podem ser visualizados nos estágios digestivo e nervoso. A forma digestiva é a mais comum entre os casos clínicos e apresenta sinais inespecíficos, além de sinais envolvendo o sistema digestório como diarreia e redução nos movimentos ruminais. Quando o quadro não é tratado rapidamente, torna-se perceptível odor cetônico na respiração, urina e leite além de depressão e letargia seguida de decúbito. O estágio nervoso é de menor ocorrência, porém de suma importância, pois faz parte da evolução da enfermidade. Nesse estágio o animal demonstra mudanças no comportamento como movimentos circulares, empurrar e lambe objetos, alteração da visão, além de hiperestesia, tremores e incoordenação motora (Baird, 1982; Gordon et al., 2013). A forma subclínica da doença é a mais incidente, porém de difícil diagnóstico por apresentar sinais inespecíficos como inapetência, dorso arqueado, pele ressecada, redução da produção leiteira e perda de condição corporal (Gonzalez et al., 2014). O diagnóstico é baseado no histórico do animal, aliado ao exame clínico completo e confirmado através de exames complementares realizados no sangue, urina, leite e líquido ruminal, que buscam elucidar o estado metabólico do animal através da avaliação dos níveis de corpos cetônicos (Sato & Shiogama, 2010; Gordon et al., 2013). Essa avaliação pode ser realizada principalmente através de métodos cinéticos e colorimétricos. Dentre os métodos cinéticos (predominantemente laboratoriais), a avaliação sérica de BHB tem se mostrado a mais confiável forma de identificar o transtorno. Os níveis fisiológicos do metabólito para vacas leiteiras estão abaixo de 1,0 mmol/L, entre 1,2 e 1,4 mmol/L para forma subclínica e

acima de 1,4 mmol/L para forma clínica (Leblanc, 2010). Também é possível detectar alterações no metabolismo energético do animal através da presença de cetonas no leite (Wood et al., 2004). Níveis superiores a 10 mg/dL (1,75 mmol/L) no leite indicam cetose.

A identificação dos casos a campo pode ser realizada através de métodos colorimétricos (fitas reativas) para mensurar corpos cetônicos tanto na urina quanto no leite. O Keto-Test (Elanco Animal Health, Sanwa Kagaku Kenkyusho Co Japão) validado por Oetzel (2004), corresponde a uma fita que altera sua coloração na presença de anormalidades na concentração de corpos cetônicos no leite. Do mesmo modo, o Ketostix (Bayer Healthcare LLC, Tarrytown, NY, EUA), validado por Carrier et al. (2004), também avalia as concentrações de corpos cetônicos, porém esta análise é realizada na urina. Outro equipamento que pode ser utilizado a campo para identificação do transtorno é o FreeStyle Optium (Abbott Laboratories Ireland, Dublin, Irlanda) (McArt et al., 2013; Krempasky et al., 2014; Weng et al., 2015), um equipamento de análise rápida (5 segundos) que avalia os níveis séricos de BHB, apresentando alta sensibilidade e especificidade tanto para ovinos quanto para bovinos (Voyvoda & Erdogan, 2010; Panousis et al., 2012). A utilização desses métodos facilita a rápida detecção e consequente tratamento e/ou prevenção das formas de cetose.

Efeitos da cetose no leite

O Brasil é o quarto maior produtor mundial de leite com produção anual de 34,2 bilhões de litros (IBGE, 2014), tendo esta atividade uma

significativa importância sócio-econômica; apesar disso a qualidade da matéria-prima ainda é um grande entrave ao desenvolvimento da cadeia produtiva do leite (Borges, 2009). A qualidade do leite é determinada tanto pelo processo de produção quanto pela sua composição (Rangel et al., 2009; Galvao et al., 2010). A redução da IMS no pós-parto recente associada à produção de leite intensificam o BEN, aumentando a lipomobilização e os níveis séricos de corpos cetônicos. Essa limitação energética tende a aumentar o teor de gordura e reduzir a proteína no leite, sendo a razão entre a porcentagem de gordura e proteína usada para monitorar a prevalência de cetose subclínica no rebanho (Duffield, 2000; Gantner et al., 2009). A relação gordura:proteína superior a 1,5 na primeira ordenha do dia aponta déficit energético, indicando um quadro de cetose (Robinson et al., 2003). A associação que existe entre o aumento da gordura no leite e a hipercetonemia deve-se presumivelmente ao aumento na disponibilidade do BHB e ácidos graxos para a síntese da gordura do leite (Duffield, 2006; Gonzalez, 2009) provenientes da β -oxidação do tecido adiposo (Reist et al., 2002). Quanto mais intensa a lipomobilização, maior será o valor de gordura no leite e maior o risco de distúrbios metabólicos severos no animal (cetose clínica) (Gonzalez, 2004).

O aumento de corpos cetônicos está diretamente ligado a uma redução da produção de leite, que atinge valores de 1 a 1,5 litros por dia em animais com cetose subclínica (Duffield, 2000). As perdas seguem aumentando à medida que os valores de BHB aumentam, havendo perdas de até 4 kg de leite por dia (Duffield, 1998). A cetose subclínica também diminui o desempenho reprodutivo (Walsh et al., 2007), que é

decorrente do retardo na reativação da função ovariana com aumento no intervalo do primeiro serviço pós-parto, aumento do número de serviços e maior intervalo parto-concepção (Ingvarlsen et al., 2004).

Prevenção, formas de controle e tratamento da doença

A detecção precoce de alterações na saúde da vaca leiteira permite que seja realizada intervenção antes que os níveis de produção dos animais, ou até mesmo sua sobrevivência esteja ameaçada (Weng et al., 2015). A prevenção da cetose está relacionada ao manejo do periparto, mais especificamente com a nutrição adequada (Dann et al., 2006). A verificação do ECC para monitorar a eficácia do programa nutricional tem efeito significativo sobre o equilíbrio energético no início da lactação (Wathes et al., 2007) e é uma medida bastante simples, mas que pode auxiliar muito na prevenção da doença, já que a ocorrência de cetose tem sido associada à maior lipomobilização no pós-parto (Loor et al., 2013). Vacas com ECC elevado ($> 3,5$) no pós-parto recente apresentam um BEN mais exacerbado do que vacas com ECC adequado (2,5 a 3,5), predispondo o animal a desenvolver cetose (Allbrfahim et al., 2010; Shin et al., 2015). Outra estratégia de reduzir o risco da doença é disponibilizar mais energia para as vacas no pós-parto recente através do uso de propilenoglicol e gordura protegida. O propilenoglicol dá origem a grandes quantidades de propionato e glicerol no rúmen, aumentando os níveis de glicose e insulina e reduzindo AGNE e BHB séricos nesses animais (Gordon et al., 2013). O uso de gordura protegida com sais de cálcio eleva a densidade energética da dieta (Ganj Khanlou et al., 2009)

sem aumentar a ingestão de carboidratos ou comprometer a ingestão de fibras, favorecendo um maior aporte de energia para a síntese do leite e de seus componentes (Desnoyers, 2009). Além disso, a gordura protegida pode contribuir para a redução da queda abrupta da IMS estabilizando os níveis de cetonas sanguíneas (Schein, 2012).

A diminuição da IMS reduz a síntese de proteína microbiana limitando a oferta de aminoácidos essenciais, responsáveis pela formação de precursores gliconeogênicos e proteínas do leite (Drackley et al., 1999). O uso de aminoácidos protegidos também tem sido utilizado como estratégia para prevenir a cetose. O aminoácido essencial metionina tem um papel importante, pois reduz a metanogênese ruminal, desviando átomos de C e H⁺ do metano. Esse desvio faz com que haja maior produção de propionato, aumentando a eficiência energética da dieta em até 4% e reduzindo a cetogênese (Gonzalez et al., 2014). Outros dois aminoácidos importantes são a niacina e a colina, sintetizados pelos microrganismos ruminais. A niacina é necessária para síntese de compostos NAD⁺ e NADP⁺, coenzimas essenciais no metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas. Sua utilização ocasiona a redução da lipídose e redução do fluxo de AGNE no sangue (Yuan et al., 2012). A colina tem uma importante ação na formação de fosfolipídeos que estruturam lipoproteínas, essenciais para o transporte dos TAG (Zom et al., 2011). Sua suplementação na forma protegida tem se mostrado eficaz na redução da cetogênese, através da diminuição da esterificação de ácidos graxos e do aumento na secreção de lipoproteínas (Piepenbrink & Overton, 2003), além da redução de esteatose hepática (Cooke et al., 2007).

Como alternativa preventiva e/ou de tratamento o uso de butafosfan, um composto a base de fósforo orgânico associado à cianocobalamina tem se mostrado eficiente (Fürll et al., 2010; Rollin et al., 2010; Nuber et al., 2015), visto que age no ciclo de Krebs disponibilizando mais energia e reduzindo a expressão de genes relacionados à cetogênese e oxidação de ácidos graxos (Kreipe et al., 2011). Além disso, ele reduz a intensidade do BEN, através da diminuição das concentrações plasmáticas de AGNE e BHB, aumentando a produção de leite (Pereira et al., 2013). A utilização de cápsulas de liberação controlada de monensina também são eficientes na prevenção de cetose clínica e subclínica, aumentando a produção ruminal de ácido propiônico e reduzindo as concentrações de ácido acético e butírico, reduzindo a formação de corpos cetônicos (Melendez et al., 2006).

Existem diferentes terapias associadas ao tratamento da cetose que baseiam-se em aumentar a glicose sanguínea, disponibilizando precursores gliconeogênicos e reduzindo a formação de corpos cetônicos (Andrews et al., 2004). O tratamento mais comumente utilizado é a administração endovenosa de glicose 50% com uma dosagem que varia de acordo com a lactose eliminada no leite (Radostits et al., 2007); entretanto, o incremento energético dessa estratégia é transitório (duas a três horas) (Gordon et al., 2013) e se não forem tomadas outras medidas o quadro clínico pode retornar. Para tanto, utiliza-se a associação de glicose 50% ao uso de glicocorticoides para manter a glicemia elevada por mais tempo (oito a dez horas) (Schein, 2012). A insulina também pode ser utilizada juntamente com a glicose 50%, tendo efeito anabólico

que irá aumentar a síntese de gordura e o uso dos corpos cetônicos como fonte energética. Seu uso pode ser importante em casos em que o animal não responde ao tratamento com glicose ou glicocorticoides (Hayirli, 2006; Smith, 2008). No entanto, o início da lactação, que é o período de maior ocorrência da doença, é marcado por uma resistência à insulina transitória, que pode afetar negativamente esse protocolo de tratamento, além de ele ser pouco explorado pelo elevado custo do produto (Gordon et al., 2013).

Outra estratégia comumente utilizada é a administração via oral de drench, que tem como base o propilenoglicol. Ao chegar ao rúmen esse composto é diretamente absorvido, sendo utilizado no ciclo de Krebs para aumentar a oxidação de acetil-CoA e estimular a gliconeogênese ou é convertido em propionato, que também pode ser direcionado para esta via e ainda estimula a liberação de insulina (Gordon et al., 2013). Este composto, utilizado em vacas com cetose subclínica pode reduzir os casos de deslocamento de abomaso, aumentar a taxa de concepção ao primeiro serviço (McArt et al., 2012b), aumentar a produção de leite (Nielsen & Ingvarsen, 2004) e prevenir a cetose clínica (McArt et al., 2011). Além disso, seu uso pode ser associado a glicocorticoides, que aumentam indiretamente a glicemia através do bloqueio dos efeitos da insulina, sem influenciar a lipólise e diminuindo as concentrações de BHB (Drift et al., 2015).

Considerações finais

Vacas que apresentam BEN mais acentuado são mais susceptíveis a desenvolverem cetose. A prevenção, diagnóstico e controle desse transtorno são essenciais para evitar ou minimizar os efeitos negativos na produção e qualidade do leite, reduzindo as perdas econômicas e possibilitando ao animal expressar sua maior capacidade produtiva.

Referências

- Allbrahim, R.M.; Crowe, M.A.; Duffy, P. et al. 2010. The effect of body condition at calving and supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* on energy status and some reproductive parameters in early lactation dairy cows. *Animal Reproduction Science* 121, 63-71.
- Andrew, P.; McPherson, C.; McEneny, J. 2012. The biochemistry of ketogenesis and its role in weight management, neurological disease and oxidative stress. *Journal of Physiology Biochemistry* 68, 141-151.
- Baird, G.D. 1982. Primary ketosis in the high-producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention, and outlook. *Journal of Dairy Science* 65, 1-10.
- Bell, A.W. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science* 73, 2804-2819.
- Bertoni, G., Trevisi, E.; Lombardelli, R. 2009. Some new aspects of nutrition, health conditions and fertility of intensively reared dairy cows. *Italian Journal of Animal Science* 8, 491-518.
- Borges, K.A.; Reichert, S.; Zanela, A M.B.; Fischer, V. 2009. Avaliação da qualidade do leite de propriedades da região do Vale do Taquari no estado do Rio Grande do Sul. *Acta Scientiae Veterinariae* 37, 39-44.
- Carrier, J.; Stewart, S., Godden, S. et al. 2004. Evaluation and use of three cowside tests for detection of subclinical ketosis in early postpartum cows. *Journal of Dairy Science* 87, 3725-3735.
- Chapinal, N.; Carson, M.E.; Duffield, T.F. et al. 2011. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. *Journal of Dairy Science* 94, 4890-4903.
- Chapinal, N.; Carson, M.E.; Leblanc, S.J. et al. 2012. The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. *Journal of Dairy Science* 95, 130-1309.

- Cooke, R. F.; Silva, D.R.N.; Caraviello, D.Z. et al. 2007. Supplemental choline for prevention and alleviation of fatty liver in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 90, 2413–2418.
- Dann, H.M.; Litherland, N.B.; Underwood, J.P. et al. 2006. Diets during far-off and close-up dry periods affect periparturient metabolism and lactation in multiparous cows. *Journal of Dairy Science* 89, 3563-3577.
- Desnoyers, M.; Giger-Reverdin, S.; Bertini, G. et al. 2009. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. *Journal of Dairy Science* 92, 1620-1632.
- Drackley, J.K. 1999. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *Journal of Dairy Science* 82, 2259–2273.
- Drackley, J.K.; Andersen, J.B. 2006. Splanchnic metabolism of long-chain fatty acids in ruminants. In: *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism and Impact of Nutrition on Gene Expression, Immunology and Stress*. Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands, p. 199–224.
- Duffield, T. F.; Sandals, D.; Leslie, K.E. et al. 1998. Efficacy of monensin for prevention of subclinical ketosis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 81, 2866–2873.
- Duffield, T. 2000. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Veterinary Clinics North America Food Animal Practice* 16, 231–253.
- Duffield, T. 2006. Impact of Subclinical Ketosis on Health and Performance. *Proceedings of the North American Veterinary Conference*. p. 1-5, Florida.
- Duffield, T.F.; Lissemore, K.D.; McBride, B.W.; Leslie, K.E. 2009. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *Journal of Dairy Science* 92, 571–580.
- Espósito, G; Irons, P.C.; Webb, E.C; Chapwanya, A. 2014. Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine

- health and immune response in transition dairy cows. *Animal Reproduction Science* 144, 60-71.
- Fürll, M.; Deniz, A.; Westphal, B. et al. 2010. Effect of multiple intravenous injections of butaphosphan and cyanocobalamin on the metabolism of periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 93, 4155-4164.
- Galvão Jr, J.G.B.; Rangel, A.H.N.; Medeiros, H.R. et al. 2010. Efeito da produção diária e da ordem de parto na composição físico-química do leite de vacas de raças zebuínas. *Acta Veterinaria Brasilica* 4, 25-30.
- Ganj Khanlou, M.; Rezayazdi, K.; Ghorbani, G. R. et al. 2009. Effects of protected fat supplements on production of early lactation Holstein cows. *Animal Feed Science and Technology* 154, 276-283.
- Gantner, V.; Potocnik, K.; Jovanovac, S. 2009. Test-day records as a tool for subclinical ketosis detection. *Acta Veterinaria (Beograd)* 59, 85-191.
- Garro, C.J.; Mian, L.; Roldán, M.C. 2014. Subclinical ketosis in dairy cows: prevalence and risk factors in grazing production system. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 98, 838-844.
- Gonzalez, F.H.D. 2004. Pode o leite refletir o metabolismo da vaca? In: Congresso Brasileiro De Qualidade Do Leite. Passo Fundo, RS, Anais-CR/ROM.
- Gonzalez, F.H.D.; Silva, S.C. 2006. Introdução à bioquímica clínica veterinária. Porto Alegre: Editora Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Gonzalez, F.H.D.; Correa, M.N.; Silva, S. C. 2014. Transtornos Metabólicos nos animais domésticos; 2ª ed. Porto Alegre: Editora UFRGS.
- Gonzalez, F.H.D.; Muiño, R.; Pereira, V. et al. 2009. Indicadores sanguíneos de lipomobilização e função hepática no início da lactação em vacas leiteiras de alta produção. *Ciência Animal*

Brasileira – Suplemento 1, Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria.

- Gordon, J.L.; Leblanc, S.J.; Duffield, T.F. 2013. Ketosis treatment in lactating dairy cattle. *The Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice* 29, 433-445.
- Hayirli, A.; Grummer, R.R.; Nordheim, E.V.; Crump, P.M. 2002. Animal and dietary factors affecting feed intake during the pre-fresh transition period in Holsteins. *Journal of Dairy Science* 85, 3430-3443.
- Hayirli, A. 2006. The role of exogenous insulin in the complex of hepatic lipidosis and ketosis associated with insulin resistance phenomenon in postpartum dairy cattle. *Veterinary Research Communications* 30, 749-774.
- Herd, T.H. 2000. Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 16, 215-230.
- Holtenius, P.; Holtenius, K. 1996. New aspects of ketone bodies in energy metabolism of dairy cows: a review. *Zentralblatt Für Veterinärmedizin* 43, 579-587.
- IBGE. 2014. Estatística da produção pecuária, Rio de Janeiro. 49 p. Disponível em: <http://ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leitecouroovos_201401_publ_completa.pdf>. Acesso em: 02 set.2015.
- Ingvarsen, K.L.; Nielsen, N.I. 2004. Propylene glycol for dairy cows: A review of the metabolism of propylene glycol and its effects on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis. *Animal Feed Science and Technology* 115, 191-213.
- Kreipe, L.; Deniz, A.; Bruckmaier, R.M.; Van Dorland, H.A. 2011. First report about the mode of action of combined butaphosphan and cyanocobalamin on hepatic metabolism in non ketotic early lactating cows. *Journal of Dairy Science* 94, 4904-4914.

- Krempasky, M.; Maskalova, I.; Bujnak, L.; Vajda, V. 2014. Ketone bodies in blood of dairy cows: Prevalence and monitoring of subclinical ketosis. *Acta Veterinaria Brno* 83, 411-416.
- Leblanc, S. 2010. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *Journal of Reproduction and Development* 56, 29-35.
- Loor, J.J.; Bionaz, M.; Drackley, J.K. 2013. Systems physiology in dairy cattle: nutritional genomics and beyond. *Annual Reviews of Animal Biosciences* 1, 365-392.
- McArt, J.A.A.; Nydam, D.V.; Oetzel, G.R. 2011. A field trial on the effect of propylene glycol on milk yield and resolution of ketosis in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. *Journal of Dairy Science* 94, 6011-6020.
- McArt, J.A.A.; Nydam, D.V.; Oetzel, G.R. 2012a. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 95, 5056–5066.
- McArt, J.A.A.; Nydam, D.V.; Oetzel, G.R. 2012b. A field trial on the effect of propylene glycol on displaced abomasum, removal from herd, and reproduction in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. *Journal of Dairy Science*, 95, 2505–2512.
- McArt, J.A.A.; Nydam, D.V.; Oetzel, G.R. et al. 2013. Elevated non-esterified fatty acids and β -hydroxybutyrate and their association with transition dairy cow performance. *The Veterinary Journal*, 198, 560–570.
- Melendez, P.; Goff, J.P.; Risco, C.A. et al. 2006. Incidence of subclinical ketosis in cows supplemented with a monensin controlled-release capsule in Holstein cattle, Florida, USA. *Preventive Veterinary Medicine* 73, 33–42.
- Nielen, M.; Aarts, M.G.; Jonkers, A.G.; Scwukken, Y.H. 1994. Evaluation of two cowside tests for the detection of subclinical ketosis in dairy cows. *Canadian Veterinary Journal* 35, 229-232.
- Nielsen, N.I.; Ingvarsten, K.L. 2004. Propylene glycol for dairy cows. A review of the metabolism of propylene glycol and its effects

- on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis. *Animal Feed Science and Technology* 115, 191-213.
- Nuber, U.; Van Dorland, H.A.; Bruckmaier, R.M. 2015. Effects of butafosfan with or without cyanocobalamin on the metabolism of early lactating cows with subclinical ketosis. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 99, 1-10.
- Oetzel, G.R. 2004. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 20, 651-674.
- Panousis, N.; Brozos, C.H.; Karagiannis, I. et al. 2012. Evaluation of Precision Xceed meter for on-site monitoring of blood β -hydroxybutyric acid and glucose concentrations in dairy sheep. *Research in Veterinary Science* 93, 435-439.
- Pereira, R.A.; Silveira, P.A.S.; Montagner, P. et al. 2013. Effect of butaphosphan and cyanocobalamin on postpartum metabolism and milk production in dairy cows. *Animal* 7, 1143-1147.
- Piepenbrink, M.S.; Overton, T.R. 2003. Liver metabolism and production of cows fed increasing amounts of rumen-protected choline during the periparturient period. *Journal of Dairy Science* 86, 17221733.
- Radostits, O.M.; Gay, C.C.; Hinchcliff, K.W. et al. 2007. *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10th edition., Philadelphia: Elsevier, 2156 p.
- Rajala-Schultz, P.J.; Gro, Y.T.; McCulloch, C.E. 1999. Effects of milk fever, ketosis, and lameness on milk yield in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 82, 288-294.
- Rangel, A.H.N.; Medeiros, H.R.; Silva, J.B. et al. 2009. Correlação entre a contagem de células somáticas (CCS) e o teor de gordura, proteína, lactose e extrato seco desengordurado do leite. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável* 4, 57- 60.
- Reist, M.; Erdin, D.K.; Voneuw, D. et al. 2002. Estimation of energy balance at the individual and herd level using blood and milk

- traits in high-yielding dairy cows. *Journal of Dairy Science* 85, 3314- 3327.
- Risco, C.A. 1992. Calving related disorders. In: Van Horn, H.H.; Wilcox, C.J. Large dairy herd management. Savoy, American Dairy Science Association, p. 193-198.
- Robinson, W.F.; Huxtable, C.R.R. 2003. *Clinicopathologic Principles for Veterinary Medicine*, Cambridge University Press.
- Rollin, R.; Berghaus, R.D.; Rapnicki, P. et al. 2010. The effect of injectable bupaphosphan and cyanocobalamin on postpartum serum beta-hydroxybutyrate, calcium, and phosphorus concentrations in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 93, 978-987.
- Sato, H.; Shiogama, Y. 2010. Acetone and isopropanol in ruminal fluid and feces of lactating dairy cows. *Journal of Veterinary Medical Science* 72, 297-300.
- Schein, I.H. 2012. *Cetose dos Ruminantes. Disciplina de transtornos metabólicos dos animais domésticos*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, RS. 35p.
- Simensen, E.; Halse, K.; Gillund, P.; Lutnaes, B. 1990. Ketosis treatment and milk yield in dairy cows related to milk acetoacetate levels. *Acta Veterinaria Scandinavica* 31, 433–440.
- Shin, E.K.; Jeong, J.K.; Choi, I.S. et al. 2015. Relationships among ketosis, serum metabolites, body condition, and reproductive outcomes in dairy cows. *Theriogenology* 84, 252–260.
- Smith, B.P. 2008. *Large Animal Internal Medicine - Text and Veterinary Consult Package*, 4^a ed. Editora Mosby, EUA. 1872p.
- Voyvoda, H.; Erdogan, H. 2010. Use of a hand-held meter for detecting subclinical ketosis in dairy cows. *Research in Veterinary Science* 89, 344-351.
- Wathes, D.C., Bourne, N., Cheng, Z. et al. 2007. Multiple correlation analyses of metabolic and endocrine profiles with fertility in primiparous and multiparous cows. *Journal of Dairy Science* 90, 1310– 1325.

- Walsh, R.B., Walton, J.S.; Kelton, D. F. et al. 2007. The Effect of Subclinical Ketosis in Early Lactation on Reproductive Performance of Postpartum Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* 90, 2788–2796.
- Wood, G.M., Boettcher, P.J.; Kelton, D.F.; Jansen, G.B. 2004. Phenotypic and genetic influences on testday measures of acetone concentration in milk. *Journal of Dairy Science* 87, 1108-1114.
- Weng, X.; Chen, L.; Neethirajan, S.; Duffield, T. 2015. Development of quantum dots-based biosensor towards on-farm detection of subclinical ketosis. *Biosensors and Bioelectronics* 72, 140-147.
- Yuan, K.; Shaver, R.D.; Bertics, S.J. et al. 2012. Effect of rumen-protected niacin on lipid metabolism, oxidative stress, and performance of transition dairy cows. *Journal of Dairy Science* 95, 2673–2679.
- Zom, R.L.; Baal, J.; Goselink, R.M. et al. 2011. Effect of rumen-protected choline on performance, blood metabolites, and hepatic triacylglycerols of periparturient dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 94, 4016–4027.

Hipocalcemia e hipomagnesemia en vacas lecheras: diagnóstico y control⁹

Luis Barros Vidal

Universidad de La República

Introducción

La hipocalcemia y la hipomagnesemia son enfermedades tradicionales de las vacas lecheras, ya consideradas metabólicas desde el siglo XIX. La hipocalcemia es una enfermedad metabólica en el sentido que existe un mecanismo de regulación para su homeostasis, y aunque no sucede lo mismo con la hipomagnesemia continúa siendo clasificada como tal. La intensificación de la producción lechera en los últimos decenios y en particular la selección genética para el incremento de la producción láctea por vaca individual, provoca un efecto negativo sobre la estabilidad metabólica de los animales. Se comprueba en diferentes países una prevalencia relativamente elevada de casos clínicos por hipocalcemia y particularmente alta por hipocalcemia subclínica. La prevalencia de la hipomagnesemia es mayormente dependiente del aporte proveniente de las pasturas mejoradas y de su control. La intensificación de la producción láctea con altos rendimientos viene

⁹ Barros, L. 2015. Hipocalcemia e hipomagnesemia en vacas lecheras: diagnóstico y control. II Simpósio Nacional da Vaca Leiteira. Anais. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 221-254.

acompañada por elevados costos para el mantenimiento de la homeostasis de esos animales, que son sometidos a unas enormes y estresantes demandas metabólicas durante el período de lactancia. Esas demandas se acrecientan con la edad del animal considerando que la producción por lactancia se incrementa en cada año sucesivo, mientras que la habilidad de respuesta de las vacas tiende a disminuir de la misma manera que sus reservas corporales, particularmente si la dieta no es lo suficientemente balanceada para cubrir las necesidades en los diferentes momentos del ciclo reproductivo-productivo. La capacidad de movilización mineral también disminuye con la edad: un animal joven puede intercambiar un 17 a 20% de su calcio (Ca) óseo, mientras que una vaca mayor a 10 años lo hará en un 2 a 5%.

De manera general, los períodos de producción deben contemplar las pérdidas minerales por producción de leche, así como los períodos de recuperación metabólica, principalmente en el período seco, con la finalidad de prevenir el desbalance del inicio de lactación, período donde ocurre la mayor frecuencia de alteraciones metabólicas de hipocalcemia clínica y de otras enfermedades asociadas a la hipocalcemia subclínica. La hipomagnesemia puede acompañar este período pero su prevalencia está mayormente vinculada con el pico de lactación y con los ciclos de las pasturas.

En el desbalance mineral intervienen varios eventos metabólicos concurrentes, tales como la disminución del apetito en los períodos de mayores demandas; la distensión ruminal; la frecuencia y volumen de la materia seca consumida determinando la saciedad y el comportamiento alimentario; la influencia del propio estrés del período parto-inicio de

lactancia; los factores ambientales de confort en el establecimiento; el comportamiento social por dominancia, agrupamiento y atestamiento de los animales; las enfermedades inflamatorias del periparto asociadas a la disminución de las defensas del aparato inmunitario provocado por el estrés, además del estricto balance nutricional aportado por la dieta.

Durante el período de transición, léase de las tres o cuatro semanas anteriores y posteriores al parto, el momento del periparto es aquel de mayores riesgos en la salud de las vacas lecheras y es donde ocurre la mayor frecuencia de enfermedades del año productivo. La adaptación metabólica de la vaca al crecimiento fetal al final de la gestación; a las necesidades obligatorias de la glándula mamaria para la calostrogénesis; al inicio y mantenimiento de la lactancia; a las exigencias hormonales de recuperación uterina; a las demandas energéticas y proteicas para la producción de leche; al desbalance entre necesidades alimentarias y la capacidad volumétrica del rumen; a la adaptación hormonal al desbalance energético obligatorio del inicio de lactancia u homeorresis; son algunos de los factores que tienen más relevancia por sus efectos en el metabolismo general y en la estabilidad del sistema inmunitario. El estrés metabólico y los factores ambientales y sociales de los animales están relacionados con una significativa incidencia de enfermedades inflamatorias e infecciosas que afectan principalmente al aparato reproductivo, tales como: el retraso en la involución uterina, las metritis o endometritis, las retenciones de placenta o las mastitis por coliformes. El incremento de los procesos inflamatorios está relacionado con la disminución de la respuesta inmune por cambios en los patrones de respuesta de las proteínas de fase aguda, que provocan una inefectiva

acción de los leucocitos, particularmente los neutrófilos y los monocitos sobre los agentes patógenos. Los procesos inflamatorios inducidos por las proteínas de fase aguda: citoquinas (tumor necrosis factor α (TNF- α), interleucina 1 (IL-1), e interleucina 6 (IL-6) y eicosanoides son acompañados de procesos inflamatorios agudos con hipertermia, taquicardia y anorexia o disorexia (Sordillo, 2013).

Las exigencias energéticas de esos períodos se manifiestan por una elevada lipomovilización y una cetosis subclínica que inducen a modificaciones histopatológicas del parénquima hepático con esteatosis, la que puede presentarse de discreta a severa, provocando una consecuente disfuncionalidad del sistema digestivo y hormonal que agrega un efecto negativo a la funcionalidad metabólica que ya se encuentra comprometida por los factores mencionados anteriormente. Así, la condición corporal sufre las consecuencias producto del catabolismo energético y proteico con disminución del estado corporal por pérdida de la masa muscular y de la reserva grasa. Las consecuencias hormonales en el metabolismo de la glucosa están relacionadas con la secreción de la insulina por el páncreas y su sensibilidad en el músculo esquelético, en el tejido adiposo y en el hígado afectando la salud metabólica del animal. Esas modificaciones se revelan como variaciones de la concentración de los ácidos grasos libres y del betahidroxibutirato (BHB) induciendo una respuesta de insulino-resistencia en esos órganos durante la preñez y la lactancia. A su vez, también existe una relación entre el metabolismo energético y el metabolismo mineral (Lean, 2006). Los tenores en minerales: calcio, magnesio, fósforo, la diferencia iónica y los niveles de potasio tienen influencia en el balance del metabolismo

mineral y en la fisiopatología del síndrome de vaca caída y particularmente en el cuadro clínico y subclínico de la hipocalcemia y de la hipomagnesemia de la vaca lechera. La importancia de estas enfermedades metabólicas está en el efecto directo sobre la vida productiva de las vacas, pero aún más en su salud por las alteraciones y afecciones asociadas que ocurren en el periparto y el puerperio como las mastitis, las distocias, las retenciones de placenta, las infecciones uterinas, y los desplazamientos de abomaso, entre otras.

Hipocalcemia en vacas lecheras

Antecedentes

La demanda por aumentar la producción de leche para consumo humano trajo aparejado la selección genética y la mejora en la alimentación de la vaca lechera, resultando en un significativo incremento de la secreción láctea por animal y por lactancia. Ese incremento de la producción fue acompañado por una mayor exigencia metabólica, cuyo natural equilibrio en la evolución de la especie no ha sido compensado por la ganancia genética, inducida por el hombre en la última centuria. Es así que una enfermedad como la hipocalcemia, con una prevalencia muy poco común, comienza a incrementarse. Hutrya et al. (1947) en su libro sobre “Patologías especiales y terapéuticas de los animales domésticos” indican que un primer caso de hipocalcemia se registró en 1793, coincidiendo con la introducción en Europa de la selección genética orientada a buscar animales de alta producción bajo

un limitado nivel de intensificación agrícola. Diversas hipótesis sobre la etiología surgieron para esa enfermedad que se presentaba en las horas próximas al parto, comprendiendo la apoplejía, la trombosis, la infección del útero o de las mamas. Señala Jack Payne (1981) que un aporte importante al conocimiento fue la teoría del danés Jurgens Schmidt que en 1897 sugirió que la enfermedad era debida a una infección de la ubre y que la infusión intramamaria de ioduro de potasio constituía un buen tratamiento, terapia que generó buenos resultados con una reducción de la mortalidad desde un 15% a un 70%. Luego se observó que la infusión de agua intramamaria era igualmente efectiva y que el insuflado de la ubre era incluso más efectivo (Greig, 1930 *in* Payne, 1981). El segundo gran avance en el diagnóstico llega en 1925 cuando Dryerre y Greig enunciaron una teoría asociando la enfermedad con la disminución del Ca en sangre, argumentando que tenía su génesis en el pasaje del mineral a la mama en animales con deficiencia de hormonas paratiroideas. La confirmación de la teoría que la hipocalcemia era la etiología de la paresia puerperal, fue dada por los mismos Dryerre y Greig en 1930 de Edinburgo, empleando gluconato de Ca por vía parenteral para remitir los síntomas clínicos. Es interesante notar que desde 1934, cuando Hayden sintetizó el borogluconato de Ca para el tratamiento endovenoso, hoy en día continúa siendo el tratamiento empleado y efectivo. Los mayores avances científicos y técnicos en la resolución del problema clínico ha sido la prevención, con cambios en la alimentación y en el manejo de las vacas pre-parturientas. Se han tomado en cuenta los cambios metabólicos del período de transición y del posparto para controlar el metabolismo mineral que hace eclosión en el periparto.

Desde el punto de vista clínico, la hipocalcemia es un caso individual, pero las medidas preventivas se toman para el manejo colectivo de la enfermedad, considerando su importancia económica a nivel del establecimiento lechero y que más del 80% de esas vacas se encuentra en hipocalcemia subclínica. Históricamente, la enfermedad clínica se describió con diferentes sinonimias: hipocalcemia puerperal, paresia puerperal, fiebre vitular, eclampsia posparto, fiebre de la leche, paresia posparto, paresia de la parturienta e hipocalcemia de la vaca lechera.

Descripción

La hipocalcemia es una enfermedad metabólica que se presenta principalmente en la vaca lechera durante el período periparto, manifestándose por una sintomatología nerviosa, de tipo depresivo, con paresia y cuyo curso agudo evoluciona a la muerte si el animal no es tratado. La etiopatogenia está determinada por una alteración del balance diario de Ca y por la incapacidad de los mecanismos de regulación para mantener la homeostasis frente a pérdidas enormes y súbitas, inducidas por el pasaje masivo del Ca plasmático hacia la glándula mamaria en el inicio de lactancia. Las pérdidas de Ca pueden ser de 25 g o más para una producción de al menos 10 L de calostro. La leche contiene 1,2 g de Ca por L, lo que permite calcular una pérdida de 30 g para una vaca buena productora con necesidades para mantenimiento sólo de 12 g por día.

La estabilidad de la calcemia es vital para la normal homeostasis de la mayoría de los órganos y funciones del organismo. El *pool* de Ca es

calculado en 14 g/kg PV en el bovino, estando distribuido en un 99% en el esqueleto y el resto en otros órganos. Se destaca el espacio extracelular dividido en extravascular e intersticial con 5 a 6 g, donde ocurren funciones de intercambio iónico, siendo el mineral disponible para cubrir exigencias metabólicas inmediatas. El Ca es transportado por el espacio intravascular como calcemia en sus dos fases: el Ca no difusible, ligado y transportado por proteínas y el libre o iónico (40 a 50% del Ca sanguíneo) necesario para las funciones celulares como: la permeabilidad de membrana, la coagulación sanguínea, la excitabilidad neuromuscular, la contracción muscular y también la acción como cofactor enzimático u hormonal, dependiendo su disponibilidad del pH sanguíneo. El balance del mineral debe estar equilibrado entre la absorción intestinal (alrededor del 68%), la eliminación endógena por recambio óseo y las necesidades para gestación y para lactación con el Ca aportado por la dieta.

Los lentos mecanismos homeostáticos de la acción de la parathormona (PTH), la vitamina D₃ (1,25 dihidroxi-colecalciferol) y la calcitonina, no permiten la adaptación del intestino, el hueso y el riñón a las obligatorias y fuertes demandas de la calostrogénesis y la lactancia. Particularmente, las dietas alcalinas en base a pasturas son un factor coadyuvante de la mayor importancia, ya que afectan el equilibrio ácidobásico sanguíneo. El desequilibrio hacia la dieta alcalina induce cambios en la receptividad de los receptores a la PTH bloqueando la acción hormonal y por lo tanto: disminuye la movilización del Ca proveniente de la resorción osteoclástica de la hidroxiapatita de los huesos; disminuye la síntesis del 1,25 di-hidroxi-colecalciferol por el

riñón y el hígado, resultando con una disminución en la respuesta para mantener la homeostasis de la calcemia. Un factor muy destacado en la literatura científica, como importante en el desequilibrio del mineral, es el alto contenido de potasio en los forrajes provenientes de una intensa fertilización del suelo para mejorar los rendimientos en materia seca. Este elemento fue reconocido en la patogenia de la hipomagnesemia por Kemp y 't Hart en 1957, y ahora se le reconoce ampliamente en su papel de factor de riesgo para la hipocalcemia al relacionarlo con el balance iónico de la dieta y en particular con la modificación del equilibrio ácido-base sanguíneo. El potasio propende a la alcalinización sanguínea que actúa reduciendo la movilización del Ca óseo y la disminución del Ca iónico en sangre, factor principal para desencadenar el cuadro clínico.

El desbalance en la homeostasis cálcica desemboca con la presentación de la enfermedad, cuya sintomatología se caracteriza por un cuadro neurológico que cursa con tres etapas: una primera, fase breve de excitación; una segunda de postración con decúbito esternal y una final con decúbito lateral, previo a la muerte. El caso clínico se presenta como una hipocalcemia aguda posparto entre las 24 horas preparto y las 72 horas después. Desde el punto de vista bioquímico se caracteriza por un descenso brusco del Ca iónico sérico y desde el punto de vista clínico por un cuadro nervioso depresivo con persistencia del decúbito sin posibilidades de recuperar la estación. Esta patología se manifiesta en vacas lecheras de mediana y elevada producción, con mayor incidencia en animales que están entre su tercera y cuarta lactación, siendo las vacas multíparas más susceptibles y las primíparas prácticamente no se

enferman. La susceptibilidad individual es un importante factor. Las vacas que han tenido hipocalcemia clínica en un año y se recuperaron, tienen altas probabilidades que en el siguiente parto se manifieste nuevamente la enfermedad. El cuadro clínico puede presentarse en todas las épocas del año en que se produzcan los partos. Las razas tienen influencia en la prevalencia, siendo las Jersey más susceptibles que las Holstein y éstas más que las razas de carne donde la fiebre de la leche ocurre en forma muy poco frecuente. El diagnóstico se establece en base a la sintomatología, en particular por el cuadro nervioso depresivo en el periparto, a los exámenes colaterales y a la respuesta terapéutica al Ca. En la patología clínica se comprueban valores de calcemia muy por debajo de los normales (referencia: 9 a 11 mg/dL), entre 3,0 y 4,8 mg/dL (0,75-1,2 mmol/L), que dan nombre a la afección. La anatomía patológica no revela signos de relevancia para el diagnóstico.

Diagnóstico clínico

Clásicamente se definen tres fases o etapas de la hipocalcemia, una inicial con sintomatología leve, otra denominada de decúbito esternal con autoauscultación y otra final con decúbito lateral con coma y muerte. La primera fase puede ser detectada por el tambero, ya que es práctica de manejo común que las vacas en el período preparto final sean aproximadas hacia el lugar donde serán ordeñadas para acostumbrarlas a la futura rutina del ordeño; en otras ocasiones son alojadas en lugares o galpones cercanos. En la etapa inicial, en los dos o tres días antes del parto, puede observarse a la inspección algunos espasmos musculares en

la región de los hombros, pero preferentemente la masa muscular del tren posterior es la que presenta contracciones de tipo fasciculares en grupos de fibras musculares que son bien visibles y que se evidencian claramente por la palpación colocando la mano sobre la piel de la masa muscular. Estas contracciones pueden presentarse como mioclonias, particularmente en los músculos estriados semimembranoso y semitendinoso. Se evidencian como temblores en la estación y por una ligera disimetría en la marcha, pudiendo presentarse cierto grado de rigidez de los miembros posteriores en movimiento, como consecuencia de la alteración de la transmisión del impulso neuronal por un aumento de la irritabilidad neuromuscular. Puede haber una ligera hiperexcitabilidad e hiperreflexia, con leves temblores en cabeza y dorso pudiendo sufrir el animal grados leves de parestesia. La vaca procura no moverse, y en esta etapa de corta duración puede caer con facilidad al caminar sobre un piso duro resbaladizo o mojado, pero no es frecuente que el animal se mantenga en decúbito. La lengua puede presentar cierto grado de protrusión y haber rechinar de dientes. En la musculatura lisa se manifiestan síntomas digestivos de constipación con heces secas y duras, el apetito es normal o puede comenzar una disorexia por la disminución en las contracciones ruminales que más cerca del parto se profundizan. Puede presentarse cierto grado de distensión del rumen con ligera deformación del perfil abdominal, principalmente del lado izquierdo. La frecuencia de la rumia puede también estar disminuida. En la glándula mamaria hay relajación del esfínter del pezón que permite la salida de calostro en goteo, a veces en forma continua, mostrando una glándula muy distendida. El sensorio es normal y el animal responde a

los estímulos visuales y externos demostrando una expresión alerta. La temperatura en este período es normal, así como la frecuencia respiratoria y el pulso. Por paraclínica se puede constatar una discreta hipocalcemia con valores que pueden oscilar entre 7,5 y 8,5 mg/dL (1,87 a 2,12 mmol/L). Hay que hacer notar que existe una hipocalcemia fisiológica del parto pero ésta no tiene manifestaciones clínicas, como en este caso.

En la segunda fase, los síntomas son claramente visibles, el cuadro predominante es un cuadro de sensorio deprimido, con posición de decúbito esternal o ventral. El animal tiende a no desplazarse y quedar en decúbito esternal con una posición de la columna vertebral ligeramente encorvada en forma de S, apoyándose principalmente sobre las articulaciones radio-cubitales de las patas delanteras, colocando la cabeza hacia adelante y abajo con aspecto somnoliento, con los párpados semicerrados y dando respuesta a estímulos visuales en forma lenta o ausente. Evoluciona hacia una paresia del tren posterior con tendencia a la flaccidez, síntomas que se conocen como paresia puerperal dentro del síndrome de vaca caída. En esta etapa de parálisis flácida muscular, particularmente de los miembros posteriores, pueden presentarse algunas contracciones musculares pasajeras de tipo tetaniforme. La cabeza se vuelca hacia el flanco, en la llamada “posición de autoauscultación”, con el cuello en extensión hacia atrás y debajo como manifestación de la disminución del sensorio, mostrando una ausencia o disminución muy marcada de respuesta a los estímulos externos. Las acciones de tracción sobre la cabeza y el cuerpo, las vivas voces o ligeros golpes pueden obligar al animal a incorporarse, aunque lo hará con dificultad o no

podrá hacerlo. La permanencia en la estación tiende a ser breve, aunque a veces permanece de pie a pesar de la debilidad de los miembros posteriores que pueden presentar temblores por el intento de mantener el aplomo y el equilibrio posterior, estirando su cabeza y el cuello para equilibrar el peso corporal. Los reflejos de sensibilidad superficial en las extremidades están disminuidos, particularmente en miembros posteriores, que responden lentamente al pellizcamiento o punción de la piel o en el espacio interdigital. Igualmente ocurre con los reflejos de sensibilidad profunda en tendones. Las pupilas están dilatadas y es lento el reflejo pupilar a la luz; las córneas están secas y puede aparecer cierto grado de enoftalmia. Puede percibirse el reflejo anal disminuido, con semidilatación del esfínter anal y la aparición de materia fecal en escasa cantidad de color oscuro y seco al lado del animal. El esfínter del pezón también está semidilatado permitiendo la salida de poca cantidad de calostro por efecto del rebozamiento del canal del pezón. La temperatura corporal disminuye, con una hipotermia discreta (36 a 38°C), pudiendo percibirse por palpación las orejas frías en su base, así como las extremidades y la piel en general. Las mucosas están ligeramente pálidas y el morro seco. La frecuencia del pulso aumenta por encima de 70 a 80 por minuto con pulsaciones débiles al tacto. La frecuencia cardíaca aumenta y pueden auscultarse alteraciones del ritmo, con arritmias de tipo bloqueo aurículo-ventricular como consecuencia de la alteración en la conducción del impulso eléctrico a través del miocardio, con alargamiento del intervalo Q-T del proceso de conducción y repolarización en la carga eléctrica del corazón después de cada latido, que puede evidenciarse mediante un ECG. Este cambio eléctrico está

asociado al efecto de la hipocalcemia y particularmente al bajo Ca ionizado. En las grandes funciones se comprueba que hay anorexia, la glándula mamaria está plena y muy distendida ya que la hipocalcemia se presenta principalmente en vacas muy buenas productoras y con más de tres o cuatro partos, en el período de mayor producción de las lecheras. La bioquímica clínica indica valores subnormales de la calcemia ($< 7,5$ mg/dL ó $< 1,87$ mmol/L), así como del valor del Ca ionizado (Ca^{2+} por debajo del 40%). Puede haber hipoalbuminemia (< 30 g/L) que contribuye con el déficit de transporte del Ca ligado y los valores de fósforo y magnesio pueden estar disminuidos para el primero ($< 4,5$ mg/dL) y aumentados para el segundo ($> 2,7$ mg/dL).

A partir de esta fase, se pasa gradualmente a la tercera, caracterizada por la depresión profunda del sensorio, el decúbito lateral y la muerte en coma en el 80 % de los casos sin tratamiento. En esta etapa el animal permanece en decúbito, primero ventral y luego se coloca de lado con el cuello y la cabeza extendidos. No realiza movimientos y la flaccidez muscular es particularmente evidente. Es interesante mencionar que la parálisis en los bovinos es flácida, probablemente porque la baja concentración extracelular de Ca reduce la liberación de acetilcolina en la placa neuromuscular, disminuyendo el trofismo o fuerza de contracción, cuando en otras especies (cerdo, perro, caballo) es mayormente espástica o tetaniforme, en la llamada eclampsia. En el humano la espasticidad es similar y aparecen el signo de Trousseau - espasmo visible y doloroso del carpo y mano al comprimirse el brazo-, y el de Chvöstek espasmo facial y de la comisura labial al percutir por delante de la oreja en la rama del nervio facial-. En la vaca hay flaccidez

de la musculatura estriada e hiporreflexia generalizada con pérdida del reflejo pupilar, del palpebral, con protrusión del tercer párpado, abolición del reflejo anal y del patelar, con ausencia de respuesta a las pruebas de sensibilidad superficial y profunda. La depresión del sensorio es severa con pérdida de la conciencia y con ausencia de respuesta a los estímulos externos manifestando gran somnolencia, sopor y coma. El decúbito lateral induce a un meteorismo gaseoso por falta de eructación y debido a la posición del cuerpo, que se recupera en parte si es posible colocar la vaca en posición ventral, la administración de Ca endovenoso induce inmediatamente al inicio de la eructación, abolida en esta etapa. Las contracciones ruminales están ausentes, puede haber defecación con heces secas y duras por relajación del esfínter anal. No orina y si lo hace es por rebosamiento, la orina es escasa y de color oscuro. La temperatura es francamente hipotérmica con valores cercanos a 35-36°C, las extremidades, orejas y la piel están frías. La respiración es superficial pudiendo auscultarse u oírse cerca de las narinas un ronquido producido por parálisis de velo del paladar.

En la fase terminal hay taquicardia con una frecuencia cardíaca superior a 100-120 pulsaciones por minuto, puede auscultarse arritmia, el pulso es débil y filiforme pudiendo no percibirse a la palpación, puede haber ingurgitación de las venas yugulares, las mucosas están congestivas y el cuadro termina en colapso circulatorio. El análisis de laboratorio indica valores de calcemia que pueden bordear los 5-6 mg/dL (< 1.25 a 1,5 mmol/L) y el valor del Ca^{2+} por debajo del 30%, de un valor normal entre 42 y 47% de la calcemia. La fosfatemia puede alcanzar valores disminuidos de 3 a 4 mg/dL y la magnesemia

aumentada puede estar con valores superiores a 3.2 mg/dL. La muerte del animal sobreviene en pocas horas sin tratamiento, con una mortalidad superior al 80% en vacas multíparas de alta producción. La recuperación en fases tempranas luego de la perfusión de Ca es superior al 90%, debiendo preverse posibles recaídas en las 12 a 18 horas posteriores. En la etapa terminal, la recuperación clínica puede ser del 50-60%.

Hipocalcemia subclínica

Cuando se estudia la hipocalcemia de la vaca lechera, debe ser tenido en cuenta un capítulo especial, que es la hipocalcemia clínica, porque la casuística indica que tiene una incidencia mayor cada vez que años precedentes. Esto es debido a la mayor tecnificación agrícola con incremento de la producción de leche por animal y por el mayor control de otras enfermedades intercurrentes. El empleo de medidas de vigilancia más eficaces a nivel colectivo han permitido controlar la prevalencia de la enfermedad clínica, pero aún la baja frecuencia de casos individuales continúa siendo de importancia, particularmente por el valor económico de estas vacas de alta producción y por la merma en la producción que provoca la muerte de esos animales.

A pesar que los casos clínicos de vacas individuales están más fiscalizados, la hipocalcemia continúa siendo un problema sanitario y productivo como consecuencia de la prevalencia de la hipocalcemia subclínica que continúa aumentando y que a la vista del productor no siempre es bien percibida. La importancia radica no solamente en los animales directamente afectados, sino por las alteraciones concomitantes

por la disfunción de los diferentes sistemas del organismo dependientes de la homeostasis del Ca. Como producto de las alteraciones en la musculatura lisa aumenta la susceptibilidad a otras patologías, como el menor tono del esfínter del pezón, la mastitis a coliformes -con una tasa de riesgo 8 a 9 veces mayor en vacas que sufrieron hipocalcemia previa-, la menor contractilidad uterina, las distocias, la retención de placenta, el retraso de la involución uterina, las metritis o endometritis -con retraso en el reinicio de la actividad reproductiva-, los desplazamientos de abomaso, la disminución de la funcionalidad ruminal, la reducción del consumo voluntario, la cetosis por balance energético negativo, la disminución de la producción láctea, la menor tasa de remodelación ósea, las enfermedades podales y la disminución de la respuesta inmune entre otros trastornos conocidos que tienen un alto impacto sobre la economía del establecimiento lechero.

La importancia de la hipocalcemia subclínica es que el período no se limita al parto, sino que abarca el parto temprano y puede ir bastante más lejos en el tiempo que del pico de lactancia cuando comienza a equilibrarse la pérdida mineral por la leche con el aporte por la dieta. Los costos agregados en un establecimiento con alta prevalencia de hipocalcemia subclínica son mucho mayores que los provocados por un bajo porcentaje de vacas con curso clínico agudo.

Formas combinadas de hipocalcemia

La hipocalcemia clásica y más frecuente es la descrita con valores en sangre bajos en calcemia, bajos en fosfatemia y altos en magnesemia,

pero pueden existir otras combinaciones patológicas. Una de ellas es la hipocalcemia con hipomagnesemia que tiene un cuadro clínico similar en cuanto al cuadro de vaca caída pero la sintomatología nerviosa tiene manifestaciones musculares con mayor espasticidad, con contracciones tónico-clónicas, pudiendo haber hipertermia y muerte súbita. El tratamiento clásico no es tan efectivo a menos que se agregue magnesio en la fórmula endovenosa. Otra manifestación de vaca caída en el periparto es por la hipofosfatemia que presenta un cuadro también de posición de decúbito con parálisis en miembros posteriores, permaneciendo en estado de alerta y que no responde al tratamiento con Ca, el aporte de fósforo endovenoso es medianamente eficaz. Estos dos últimos casos pueden cursar con hipercalemia.

Tratamiento

El tratamiento de la hipocalcemia clínica aguda con la infusión endovenosa de borogluconato de Ca ya es un clásico, como fue mencionado anteriormente practicado desde Dryerre y Greig en 1930 (*in Payne*, 1981). La opción para el tratamiento clínico de la fiebre de la leche deben incluir inevitablemente el tratamiento IV con soluciones de Ca y considerar la propuesta más actual de incluir en el momento del periparto la administración de un gel oral de Ca para prevenir las recaídas del cuadro clínico que puede rondar el 25 al 40% luego de la administración de borogluconato de Ca (Queen, 1993). Algunos veterinarios administran simultáneamente a la infusión endovenosa alguna dosis subcutánea de soluciones cálcicas, pero esta práctica tiene

los inconvenientes de que la absorción no puede asegurarse, que la dosis no es lo precisa que puede pretenderse, que depende de una buena perfusión y que puede ocasionar reacciones subcutáneas adversas. Las dosis de borogluconato de Ca IV en solución al 23% aportan 8 a 14 g de Ca en 500 mL, con recomendación de dosis única y suministrada en forma lenta evitando el riesgo de paro cardíaco durante la infusión. La dosis recomendada es hasta 20 g por vez. Cada dosis suple el equivalente de 4 g en la sangre. Algunas vacas hipocalcémicas en recuperación requieren dos o más dosis intravenosas, ya que la deficiencia se estima en 10 a 20 g de Ca. Un signo del efecto favorable durante o al final de la perfusión es la respuesta de eructación indicando el reinicio de las contracciones ruminales.

Las vacas caídas en la fase 2 generalmente tienen una recuperación inmediata luego de la infusión de Ca, pero en la fase 3 puede ser necesario una segunda dosis en un volumen de 200 mL y algunas ya en coma no responden a tiempo. En casos extremos de debilidad con alteración cardíaca por arritmia puede administrarse sulfato de atropina al 1% vía endovenosa.

Los geles, en presentaciones como cloruro de Ca, o como propionato, se administran vía oral en geles de dosis única, generalmente en 300-400 mL. La absorción es rápida, el AUC máximo es a los 30 minutos y el efecto puede durar unas 6 horas. La recomendación es proporcionar un gel de Ca (un frasco) vía oral en el día del parto, que cumple una función preventiva y curativa. Se puede repetir la administración una segunda dosis a las 12 o 24 horas posparto (Oetzel, 2013). La administración de sales de Ca de buena biodisponibilidad

como carbonato de Ca en la ración puede ser un coadyuvante aunque no se manifiesta en la calcemia. Los animales en ese período se encuentran con disorexia o anorexia, y además estas sales tienen baja palatabilidad, por lo que el consumo no será muy elevado. Su administración es más conveniente para los períodos de recuperación mineral durante la lactancia. Hubo en el pasado diferentes combinaciones para compensar las variaciones de la calcemia, tales como el uso de vitamina D₃ o de otros metabolitos como 1 α -calciferol, o el empleo de la hormona paratiroidea (PTH), pero su eficacia, su disponibilidad en el mercado o el precio no resultan de conveniencia al momento actual.

El animal caído y en alerta debe colocarse en un ambiente limpio, con sombra, con agua y comida, previniendo que si permanece mucho tiempo en decúbito esternal, hay que ayudarlo a moverse de lugar varias veces al día, al menos 4 a 6 veces, porque el decúbito persistente entumece y provoca lesiones severas en sus músculos, por lo que ponerse de pie es una dificultad que a veces la vaca no puede superar por la debilidad del tren trasero. Ayudarlo a ponerse de pie en forma mecánica con un aparato levantavacas y una cincha ancha con la que pueda ser colgada desde arriba, inclusive con un engranaje palanca que pueda tener un anclaje posterior y otro anterior (lo que parecería un exceso), ayuda al animal a levantarse y estar de pie un tiempo entre 30 y 60 minutos cada vez, que puede ser la diferencia entre recuperarse o ser sacrificado. Es recomendable masajear los miembros posteriores. La complicación es mayor si la hipocalcemia ocurre en el parto inmediato lo que es muy frecuente.

Prevención

La prevención de las enfermedades del período de transición de la vaca lechera incluye en particular la hipocalcemia debido a la importancia económica y productiva en el establecimiento, así como en el mantenimiento de la salud y de la sobrevivencia de los animales sometidos a un continuo estrés para cumplir con las demandas productivas. El enfoque de la prevención del período de transición es importante para disminuir la incidencia de casos clínicos y de los efectos secundarios de la hipocalcemia subclínica, pero debe tenerse presente que la recuperación mineral y metabólica de las vacas lecheras incluye el período de lactancia tardío donde las demandas para producción disminuyen y donde el balance energético y mineral es positivo y el animal recupera su peso vivo, su masa ósea y su equilibrio metabólico, previo al fin de la gestación y del nuevo período de lactancia.

La alimentación y la nutrición son los elementos clave en el período de recuperación y preparación para la nueva lactancia. La estrategia más aceptada para la prevención de la hipocalcemia se refiere: al balance catión-anión, a dietas limitadas en Ca en el período seco, a la administración de Ca oral al parto y al aporte balanceado de Ca durante la lactancia. Dietas bajas en Ca durante las últimas semanas de gestación (menos de 20 g Ca/día en el período seco) seguida de una dieta alta en Ca durante el período de lactación, reducen manifiestamente la incidencia de la fiebre puerperal. Se propone utilizar dietas preparto bajas en Ca para crear un balance negativo de manera de estimular los mecanismos de regulación mediante la secreción de PTH que estimula la

resorción ósea por los osteoclastos y la producción renal de 1,25-(OH)₂D₃ incrementando su absorción intestinal para prevenir el momento de máximas necesidades de Ca en el parto. Se ha demostrado que la hipocalcemia es principalmente causada por una alcalosis metabólica inducida por dietas de pasturas altas en potasio. Si los niveles de potasio exceden el 2% debe considerarse suplementar las vacas secas con sales aniónicas. El Ca ingerido durante el período seco puede restringirse reemplazando total o parcialmente la alfalfa, conteniendo un 2% de Ca por henos o silajes de forraje o de maíz con contenidos entre 0,4% y 0,8% del mineral.

Con respecto a las sales aniónicas, existe un acuerdo general basado en extensos trabajos científicos que las dietas elevadas en Na⁺ y K⁺ y bajas en Cl⁻ y SO₄²⁻ tienen una influencia negativa sobre la calcemia, mientras que proporciones inversas resultan favorables como prevención. Los cationes monovalentes Na⁺ y K⁺, los bivalentes Ca²⁺ y Mg²⁺ y los aniones SO₄²⁻ y NaHCO₃ tienen una influencia negativa sobre la hipocalcemia. Se han desarrollado múltiples fórmulas para establecer la dieta con el mejor equilibrio en la homeostasis de los minerales, calculadas sobre la base [Na⁺ + K⁺] - [Cl⁻ + S²⁻]. La diferencia en la dieta de cationes-aniones (DCAD) para prevenir la fiebre de la leche está basada en un modelo de iones fuertes del balance ácido-base sanguíneo en el cual el pH plasmático está determinado por cuatro factores independientes: pCO₂; solubilidad del CO₂ en el plasma; la diferencia de iones y la concentración total de moléculas buffer débiles no volátiles del plasma, principalmente albúmina, globulinas y fosfato. La base para establecer estos equilibrios desde el punto de vista práctico es el empleo

en la dieta de sales con los cationes: cloruro de Ca (CaCl_2), sulfato de Ca (CaSO_4), cloruro de magnesio (MgCl_2), sulfato de magnesio (MgSO_4), cloruro de amonio (NH_4Cl), sulfato de amonio [$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$] o también los ácidos clorhídrico (HCl) o sulfúrico (H_2SO_4). La absorción en el tracto digestivo del diferencial a favor de cloruros y sulfatos con relación a los iones Ca, magnesio y amonio disminuyen el pH plasmático. Esa inducción a la acidosis metabólica reduce el riesgo a la hipocalcemia clínica basado en el metabolismo del Ca y la mayor disponibilidad y concentración del Ca ionizado. Se han encontrado efectos favorables a las dietas de DCAD por: menor sensibilidad a la PTH, aumento de síntesis de vitamina D_3 por el riñón, mayor absorción de Ca en el intestino e incremento de la resorción ósea. Como comprobación de la efectividad de las sales para la acidificación sanguínea se recomienda su control con la medida del pH urinario, debido a sus altos grado de correlación, donde los valores de pH 5,5–6,2 indican una correcta acción acidificante aumentando la concentración sanguínea de Ca^{2+} .

Finalmente, una dieta baja en Ca debe aportar mucho menos del requerimiento de la vaca para ser capaz de preparar los mecanismos de regulación. Por ejemplo, una vaca de 600 kg PV consumiendo 13 kg de materia seca debe ingerir una dieta que provea menos de 1,5 g/kg de Ca, o sea menos de 20 g de Ca disponible por día. Es importante tener en cuenta que luego del parto el animal debe ser cambiado a una dieta alta en Ca para cubrir los requerimientos de mantenimiento y lactación, sabiendo que cada litro de leche contiene 1,2 g de Ca total y que una vaca Holstein con 500 kg PV, con una producción de leche de 30 L/d, tiene necesidades de al menos 52,5 g Ca/d (NRC, 2001).

En conclusión, la hipocalcemia clínica de la vaca lechera debe enfocarse con el tratamiento medicamentoso en el caso individual, pero que es más importante el control de todo el rodeo, comenzando desde el período de lactación, siguiendo por el período seco y por el período de transición, con el manejo de la alimentación y el empleo de sales aniónicas, considerando que todas las vacas del tambo estarán sometidas a las mismas condiciones ambientales y que fisiológicamente esos animales presentarán un alto porcentaje de hipocalcemia subclínica, antesala de trastornos de la salud que influirán negativamente en la producción y en la economía del productor.

Hipomagnesemia

Antecedentes

La hipomagnesemia es una enfermedad metabólica clásica de los rumiantes, reconocida desde 1929 por Sjollem y Seekles (*in* Payne, 1981), ocasionada por el descenso del magnesio (Mg) en la sangre y caracterizada por un cuadro nervioso agudo con muerte en tetania. Se le conoce también como tetania de los pastos, tetania de los avenales y tetania del transporte. La alteración está determinada en primer lugar por el aporte deficiente del mineral, y existen un par de teorías que explicarían su patogenia. Una de ellas, la más antigua, está relacionada con la ingesta de vacas pastoreando por dos o tres semanas en gramíneas jóvenes de rápido crecimiento o verdeos de cereales (avena) de invierno conteniendo bajos tenores en Mg ($< 0,20\%$ MS). También es

característica de la plantas jóvenes el contenido de baja materia seca o sea de altos contenidos de agua, alto tenor en proteínas solubles y en potasio que ingresadas al tubo digestivo aumentarían el tránsito intestinal, modificando las fermentaciones ruminales y provocando diarreas que inducirían a una baja digestibilidad, disminuyendo la absorción de un contenido ya de por sí bajo en Mg. Esta situación se da en primavera u otoño que corresponde con la puesta en pasturas de las vacas para cubrir los momentos de mayores requerimientos para mantener el pico de producción lechera. Otra patogenia propuesta explicaría situaciones de estrés que desencadenan el cuadro clínico en bovinos y en ovinos como ocurre en el ayuno, en adversidades atmosféricas con frío, viento y lluvia y con el transporte. Esta respuesta está relacionada con la movilización grasa de los adipocitos del tejido de reserva por efecto de la adrenalina, que prepara a las células para una demanda energética incrementada para responder con el músculo esquelético a las exigencias para la lucha o la huida, ante ese estrés. El adipocito utiliza Mg a través de su membrana para realizar la lipólisis intracelular provocando una redistribución obligatoria del mineral. El potasio podría utilizar ese mismo mecanismo, ya que es sabido que tenores elevados de potasio son factores predisponentes que interfieren la absorción del mineral provocando la deficiencia del balance y desarrollando la hipomagnesemia. Se han señalado como causas de la hipomagnesemia las pérdidas del mineral por la leche particularmente durante el pico de lactancia; el poco aporte del mineral en la ración o las pasturas; el aporte excesivo en el suelo y las pasturas del ión K^+ y la movilización de grasas que provoca la redistribución del Mg en el

organismo. Hay que señalar que contribuye con las situaciones deficitarias que las sales de Mg de la dieta tienen un coeficiente de absorción intestinal más bajo que otros minerales con valores de 29% del aporte. El balance nutricional de Mg y su concentración en el líquido extracelular (2–3 g de Mg) dependen de la absorción activa y pasiva del Mg desde el rumen y el intestino; de los requerimientos del animal para mantenimiento y producción; de la excreción endógena del organismo y de las pérdidas por leche.

El Mg es un mineral mayor que comprende el 0,05% del peso corporal y que en una vaca de 500 kg PV hay unos 170 g de Mg en el tejido óseo, 70 g en el espacio intracelular, 2,5 g en fluidos extracelulares y 0,7 g en sangre (Mayland, 1987, *in* NRC, 2001). Su forma química se encuentra en forma libre o ionizada en el 55% o unido a proteínas en el 32% o formando complejos con citratos y fosfatos en un 13% del total (Mayland, 1988), o expresado de otra manera: 60% en hueso, 39% en tejidos blandos y 1% en el líquido extracelular (Contreras, 2003). El Mg participa en múltiples funciones del organismo, como activador o cofactor de reacciones enzimáticas; en la síntesis de proteínas; en la regulación de la permeabilidad de membranas celulares; en la movilización del Ca; en el tono y la contracción muscular y en la regulación de la bomba de Ca^{2+} en el sarcoplasma; en la regulación de acetilcolina en la placa motora; en la regulación de la estructura de RNA y DNA ribosomal, y por ello regula el crecimiento celular en la síntesis de anticuerpos y linfocitos (Kaneko et al., 1997). Las necesidades para una vaca de 500 kg PV con una producción de 20 L/d son: pérdidas por leche (0,13 g/L) 2,6 g; pérdida fecal (3 mg/kg/d)

1,5 g y pérdida urinaria de 1,0 g. Por tanto, sus necesidades de absorción son de 5,1 g/d. Ha sido propuesto que la relación $K^+/Ca^{2+}+Mg^{2+}$ sea < 2,2-2,5 (Kemp y 't Hart, 1957). Esos requerimientos mantendría los valores de Mg en sangre de 2.2 mg/dL (0,92 mmol/L). Hay varios factores de la dieta y fisiológicos que influyen en la absorción del Mg: fundamentalmente la relación K/Mg; la relación Ca/Mg; la proporción del Mg en el rumen; la relación Na^+/K^+ en el rumen (el aumento de K^+ altera el diferencial de potencial transmural celular y la actividad de la Na/K-ATPasa); las altas concentraciones de amonio ruminal que actúa como quelante; la deficiencia de energía por la microflora ruminal; el exceso de fosfatos (relación Mg/PO_4) en la ración formando sales insolubles y la edad de los animales y el pH intestinal.

Diagnóstico clínico

La hipomagnesemia se puede presentar bajo una forma subclínica y otra clínica con cuadro nervioso de hiperexcitabilidad, tetania y muerte. La forma subclínica con ausencia de síntomas clínicos presenta algunas manifestaciones como la disminución de la producción láctea, la disminución de la conversión de los alimentos que puede pasar totalmente inaparente y descubrirse solamente por la bioquímica o por la respuesta a la adición de Mg en la dieta. La forma clínica se presenta como consecuencia de la disminución del Mg en sangre, en el compartimento extracelular y en el líquido cefalorraquídeo afectando la conductividad eléctrica de las terminaciones nerviosas y musculares, controlando la excitabilidad neuronal y la transmisión de los impulsos

nerviosos en las uniones neuromusculares. Su acción actúa estabilizando las membranas biológicas en el transporte de energía comportándose como agente de relajación muscular por ese motivo su disminución se manifiesta por sintomatología nerviosa de excitación y parálisis espástica.

En el cuadro inicial hay disminución del apetito, disminución de la producción láctea (Kronfeld, 1980), pero luego rápidamente aparecen cambios en el comportamiento, volviéndose agresivo, pudiendo atacar a las personas u otros bovinos (Hicks y Pauli, 1976). Continúan los signos de hiperexcitabilidad con respuesta exagerada a los estímulos externos como los sonidos, hay hiperreflexia e hiperestesia, con temblores musculares en las grandes masas musculares y cuello. La cabeza puede estar estirada y la boca abierta por dificultad respiratoria con movimientos superficiales de mayor frecuencia, por la contractura de los músculos intercostales. En esta etapa hay hipertermia, anorexia e intranquilidad con defecaciones frecuentes con heces muy líquidas. Las micciones son frecuentes con orina de color normal. Las orejas están erguidas y el reflejo anal y el palpebral aumentados, los párpados se abren y se cierran, mostrando un nistagmus. Los síntomas neuromusculares aumentan de intensidad presentándose astasia en la estación con rigidez en extensión de los miembros, evolucionando a una incoordinación motora con ataxia que lleva a la caída del animal en paresia espástica, instaurándose convulsiones tónico-clónicas para finalizar con un cuadro de opistótonos, movimientos de pedaleo, rechinar de dientes, tetania y coma. Pueden ocurrir algunos episodios de convulsiones tónico-clónicas con períodos cortos de recuperación que se

reiteran desencadenados por sonidos o simples movimientos externos, pero finalmente se desencadena el cuadro final de tetania y muerte. Puede ocurrir que la única manifestación visible sea la muerte súbita. A la forma clínica crónica, con desmedro del animal, con baja producción láctea y con alteraciones óseas es difícil de reconocer como hipomagnesemia, salvo por exámenes rutinarios del tipo de los perfiles metabólicos.

La bioquímica clínica es concluyente para confirmar el diagnóstico, con el descenso del Mg en el suero ($<1,2$ mg/dL), en el líquido cefalorraquídeo ($<1,45$ mg/dL) y en el cadáver por la concentración de Mg en el humor vítreo ($< 1,8$ mg/dL) y en la orina ($< 2,5$ mg/dL). Los valores de referencia son 2,0 a 3,0 mg/dL (0,82 a 1;23 mmol/l) en suero y 2,0 mg/dL en líquido cefalorraquídeo (Hunt, 1996). La anatomía patológica no presenta signos relevantes. El diagnóstico se establece en base a la sintomatología clínica por el cuadro nervioso con hiperexcitabilidad y tetania, a la patología clínica y a la respuesta al tratamiento.

Tratamiento

El tratamiento y el control se enfocan a elevar los niveles del Mg en el organismo. Para el tratamiento se pueden usar soluciones de sulfato de Mg al 20% en dosis de 250-300 mL por vía intravenosa lenta, teniendo en cuenta que la magnesemia no dura estable más de 24 a 48 horas ya que el bovino no tiene capacidad de almacenar el mineral y el exceso lo excretará por vía urinaria. La formulación de Mg para administrar vía

parenteral puede ser glutamato/aspartato de Mg (Cseh, 2012). Es aconsejable aportar también óxido de Mg en forma oral en una mezcla mineral a razón de 60 g/animal/día, mezclado con concentrado, con melaza, disperso sobre el heno humedecido o como aditivo en ensilaje (1 kg/ton) o mezclado con sal 20:80 (Contreras, 2009).

Prevención

Se puede recomendar para la prevención y control suministrar mezclas minerales con niveles adecuado de Mg. En establecimientos con problemas se puede suministrar oralmente óxido de Mg a dosis de 28-56 g/animal/día. Se puede fertilizar con óxido de Mg (85 kg/ha/año) o esparcirlo sobre la pastura (28-32 kg/ha) y promover el desarrollo de leguminosas en la pastura. Evitar desbalance de exceso de potasio en el forraje (> 2,0% MS) y el exceso de proteína degradable o nitrógeno en la ración. Una forma práctica de administración es el suministro de bloques para lamer o, mejor aún, de sales en bateas de libre disponibilidad. Otra forma es suministrar fardos o rollos de forraje espolvoreados con óxido de Mg. También puede ser práctico y aconsejable mezclar con maíz molido, afrechillo o melaza para mejorar el gusto amargo del Mg. Otra alternativa es agregar 1,5 g de cloruro de Mg por L de agua en los bebederos (Cseh, 2012). El Mg puede ser suministrado como bolos de Mg intrarruminales o en sales como sulfato de Mg o cloruro de Mg; se debe tener precaución con la forma de cloruro, porque éste es poco palatable o desagradable para los animales y no lo consumirán. Las leguminosas tienden a acumular una mayor

concentración de Mg por lo que es recomendable el uso de asociaciones gramíneas-leguminosas para incrementar el consumo diario del mineral contribuyendo en la prevención de la hipomagnesemia (Goff, 1998; NRC, 2001). En suma, se debería cubrir nutricionalmente las necesidades para mantenimiento y producción, realizando análisis preventivos de suelo, alimento y animales en los períodos de riesgo, con la precaución de manejar alternativas de control y prevención en los establecimientos con alto riesgo de hipomagnesemia clínica.

Referencias

- Cseh S, Rodríguez García M, Sciotti A, Campero C. 2012. Efecto de la suplementación con magnesio sobre diversos parámetros en vacas con restricción alimentaria. *Archivos de Zootecnia* 61, 525-536.
- Contreras P. 2002. Hipomagnesemia: efectos y procedimientos de prevención en los rebaños. In: Alonso Díaz, A.J., González Montaña, J.R., Rejas López, J. *Actas del Congreso de la Sociedad Española de Medicina Interna Veterinaria*. Universidad de León. España. pp. 20-29.
- Contreras PA, F Wittwer, H Böhmwald. 1990. Concentraciones de calcio, fósforo y magnesio en suero sanguíneo de bovinos de leche en 40 predios lecheros de la X Región, Chile. *Arch. Med. Vet.* 22, 185-189.
- De Garis P, Lean I. 2008. Milk fever in dairy cows: a review of pathophysiology and control principles. *Vet J.* 176, 58-69.
- Drackley J. 1999. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier. *J. Dairy Sci.* 82, 2259–2273.
- Dryerre H, Graig J. 1925. Milk fever: its possible association with derangements in the internal secretions. *Can. Vet. Rec.* 5, 225-231.
- Goff J, Horst R. 1997. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J. Dairy Sci.* 80,1260–1268.
- Goff J. 1998. Ruminant hypomagnesemic tetanies. *Current Veterinary Therapy: Food Animal Practice*. 4th Ed. Howard J. W.B. Saunders. Philadelphia, USA. pp. 1-9.
- Goff J. 2006. Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cow for prevention of milk fever and other periparturient mineral disorders. *Anim. Feed Sci. Technol.* 126, 237-257.
- Goff J. 2008. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Vet. J.* 176, 50-57.
- Goff J. 2012. El magnesio y otros minerales en la vaca en transición. XVII Congreso Internacional Anembe de Medicina Bovina.

Santander: 124-128.

<http://web.unillanos.edu.co/docus/libro%20ponencias%20ANEMBE%202012%281%29.pdf>

- Hayden C. 1934. A method for making concentrated calcium gluconate solutions. *Cornell Vet*, 24, 66.
- Hicks J, Pauli, J. 1976. Chronic udder oedema: clinical aspects of the syndrome and its connection with hypomagnesaemia and anaemia. *N. Z. Vet. J.* 24, 255-228.
- Horst R, Goff J, Reinhardt T, Buxton D. 1997. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle *J. Dairy Sci.* 80, 1269-1280.
- Hutyra F, Marek J, Manninger R. 1947. *Patología y terapéutica especiales de los animales domésticos*, 8ª. Ed. Barcelona, Labor.
- Kaneko J, Harvey J, Bruss M (eds.). 1997. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5a. ed., New York: Academic Press. p. 674-687.
- Kemp A, 't Hart M. 1957. Grass tetany in grazing milk cows. *Neth. J. Agr. Sci.* 5, 4-7.
- Kronfeld D, Donoghue S, Naylor J, Johnson K, Bradley C. 1980. Metabolic effects of feeding protected tallow to dairy cows. *J. Dairy Sci.* 63, 545-552.
- Laporte J, Sykes A. 2004. Intestinal magnesium absorption in ruminant compensate by reduction ruminant absorption. XI Congress International Society of Animal Clinical Biochemistry. Valdivia, Chile. p. 47.
- Lean I, Van Saun R, DeGaris P. 2013. Mineral and Antioxidant Management of Transition Dairy Cows. In: *Metabolic Diseases of Dairy Cattle*. *Vet. Clin. Food Anim.* 29, 367-386.
- Mayland H. 1988. Grass tetany. In: Church (Ed.) *The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ. pp 511-523.
- National Research Council (NRC). 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th revised edition. Washington: National Academy Press. 381p.

- Oetzel GR, MJ Fettman, DW Hamar, JD Olson. 1991. Screening of anionic salts for palatability, effects on acid-base status and urinary calcium excretion in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74, 965-971.
- Oetzel G. 2002. Milk Fever. *In Encyclopedia Dairy Science.* v. 2. Editorial Academic Press. p. 824-830. Biblioteca de la División Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.
- Oetzel G. 2013. Oral calcium supplementation in peripartum dairy cows. *In: Metabolic Diseases of Dairy Cattle. Vet. Clin. Food Anim.* 29, 447.
- Queen G. 1993. Effects of oral administration of a calcium-containing gel on serum calcium concentration in postparturient dairy cows. *JAVMA* 202, 607-609.
- Payne J. 1981. Enfermedades metabólicas de los animales zootécnicos. Ed. Acriba, 219 p.
- Radostits O, Gay C, Blood D, Hinchcliff K. 1999. *Medicina Veterinaria, Vol. II. Novena Edición McGrawHill. Interamericana.* p. 2159-2161.
- Ramirez C, Tittarelli C, Mattioli G, Lasta G. 1998. Empleo del humor víteo para la estimación postmortem de la magnesemia en bovinos. *Arch. Med. Vet.* 30, 1.
- Sordillo L, Raphael W. 2013. Significance of Metabolic Stress, Lipid Mobilization, and Inflammation on Transition Cow Disorders. *In: Metabolic Diseases of Dairy Cattle. Vet. Clin. Food Anim.* 29, 267278.
- Underwood E, Suttle N. 1992. *The Mineral Nutrition of Livestock.* CABI Publishing. 3ªed. 614 p.
- Underwood E. 1977. *Trace elements in human and animal nutrition,* 4ª ed. New York, Academic Press, 545 p.
- Underwood, E. 1987. *Los Minerales en la nutrición del ganado,* 2ª ed. Zaragoza, Acribia, 210 p.

Deslocamento de abomaso em vacas leiteiras: ocorrência, manejo e indicadores diagnósticos¹⁰

**Angélica Petersen Dias
Anne Rosi Guadagnin
Felipe Cardoso**

University of Illinois

Introdução

A ocorrência do deslocamento de abomaso à esquerda ou à direita é comumente observada em bovinos de grande porte e de alta produção leiteira após o parto, sendo que aproximadamente 90% dos casos ocorrem até seis semanas após o parto (Radostits et al., 2000). A prevalência desta doença varia de rebanho para rebanho dependendo da localização geográfica, práticas de manejo e clima, dentre outros fatores. Nos EUA a incidência da afecção está associada aos meses de inverno, provavelmente devido à maior inatividade dos animais e à maior concentração de partos (Radostits et al., 2000). Detilleux et al. (1997) relacionaram que as perdas econômicas relacionadas a esta doença estão na queda da produção de leite durante o período de convalescença e o alto custo do tratamento. Estes autores relataram que desde o parto até 60 dias após o diagnóstico, as vacas leiteiras com este transtorno

¹⁰ Dias, A.P., Guadagnin, A.R., Cardoso, F. 2015. Deslocamento de abomaso em vacas leiteiras: ocorrência, manejo e indicadores diagnósticos. II Simpósio Nacional da Vaca Leiteira. Anais. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 225-274.

produziram 557 kg de leite a menos do que animais sadios, sendo que 30% das perdas ocorreram antes do diagnóstico em estudo realizado com 12.572 vacas da raça Holandesa. Raizman e Santos (2002) afirmam que a perda de produção de leite ocorre nos primeiros 4 meses de lactação. Afirmam, também, que vacas acometidas por deslocamento de abomaso à esquerda apresentam maior intervalo do parto até primeira inseminação artificial e são duas vezes mais suscetíveis a outras doenças que os animais sem problemas de saúde.

No estado do Rio Grande do Sul (sul do Brasil), este distúrbio é encontrado em bacias leiteiras de alta produção. Inexiste, entretanto, um estudo de prevalência da doença no Brasil. O avanço do conhecimento técnico para o diagnóstico do deslocamento de abomaso provavelmente foi o responsável pelo aumento do número de casos observados no Estado. Segundo relato de médicos veterinários, com experiência nesta afecção, a ocorrência é maior no período inicial de inverno e final de primavera. Uma das possíveis explicações para esta observação é que nestes períodos as pastagens de inverno e verão, respectivamente, ainda não estão estabelecidas gerando um déficit de fibra na dieta destes animais. Nesse contexto, é necessário o conhecimento dos eventos metabólicos que ocorrem antes e depois da apresentação do transtorno, principalmente em sua relação com o manejo alimentar dos animais e o envolvimento de patologias associadas, para que se possam diminuir as perdas econômicas através de um diagnóstico eficaz e um monitoramento adequado do tratamento.

Os objetivos deste artigo são revisar as causas de deslocamento de abomaso, sua patogenia e o impacto em distúrbios metabólicos

associados e avaliar como diferentes estratégias nutricionais antes e depois do parto podem afetar esta patogenia através da adequação dos nutrientes. O tema central do artigo é o manejo nutricional para promover maior ingestão de matéria seca (IMS) após o parto, e menor redução de IMS no pré-parto, que são um fator unificador para o sucesso no período de transição e a prevenção do deslocamento de abomaso.

Etiologia e epidemiologia

O deslocamento de abomaso (DA) é uma doença multifatorial relacionada com o manejo alimentar que afeta vacas leiteiras de alta produção, principalmente durante o início da lactação. A atonia abomasal é um pré-requisito para a sua ocorrência. O deslocamento de abomaso para esquerda (DAE) é predominante em 85 a 96% das ocorrências (Trent, 1990). O fornecimento de altos níveis de concentrado (grãos) na dieta aumenta a taxa de passagem do alimento pelo rúmen, causando um aumento na concentração de ácidos graxos voláteis (AGV) que pode inibir a motilidade do abomaso. O grande volume de metano e dióxido de carbono encontrado no abomaso após a ingestão de grãos pode ser responsável pela sua distensão e deslocamento (Van Winden et al., 2002). Em uma vaca saudável, a produção, a difusão e o transporte de gás estão em equilíbrio, portanto não ocorre o acúmulo (Figura 1). Uma concentração de fibra bruta menor que 16% é considerado um fator predisponente para o DA. O fornecimento de uma dieta experimental completamente peletizada resultou em um aumento na incidência de DA em 17%, enquanto uma dieta contendo feno de alfafa, silagem de sorgo e

concentrado com 18% de proteína bruta causou uma incidência de 1,6% (Dawson et al, 1992).

Sugere-se que no estágio avançado de gestação, o volume uterino aumentado ocupa uma porção do espaço do rúmen, e a retração uterina logo após o parto leva a uma predisposição anatômica de deslocamento do abomaso (Goff & Horst, 1997). O DAE ocorre principalmente no período de duas a oito semanas pós-parto. Wolf et al. (2001) verificaram que mais de 75% dos casos de DA ocorrem nos primeiros 30 dias pós-parto. Tabeleao et al. (2005), em estudo realizado no Paraná, encontraram maior ocorrência desse transtorno nos 10 dias após o parto. Shaver (1997) relatou que 80 a 90% dos casos de DAE são diagnosticados no primeiro mês pós-parto.

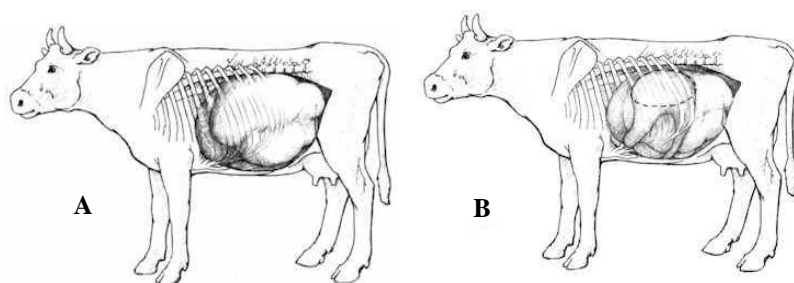


Figura 1. A) Vista lateral esquerda do aparelho digestório de um bovino normal. B) Vista lateral esquerda do aparelho digestório do bovino com DAE (Turner & McIlwraith, 1985).

Segundo Cardoso et al. (2008), o deslocamento de abomaso à esquerda é uma afecção com distribuição mundial, com comprovada incidência na Região do Planalto do Rio Grande do Sul. Em animais com DAE, a produção de leite, o peso e o escore de condição corporal

encontram-se diminuídos. A fita reagente indicativa de pH é uma boa ferramenta a campo para a determinação do pH ruminal. O tempo de redução do azul de metileno (TRAM) é significativamente menor no DAE, indicando que um dos fatores a ser corrigido no tratamento pós-cirúrgico é a reposição do equilíbrio ruminal. Os valores séricos de lactato, β -hidroxibutirato (BHB) e AST estão aumentados nos animais com DAE, sendo indicativos para o diagnóstico auxiliar desta afecção. Dentro dos parâmetros utilizados, TRAM, produção de leite, hematócrito, uréia, escore de condição corporal e BHB mostraram-se como os mais eficazes na caracterização desta afecção.

Importância econômica

Detilleux et al. (1997) concluíram que as perdas econômicas relacionadas com essa doença estão na queda na produção de leite durante o período de convalescência e o alto custo do tratamento. Segundo esses autores, as vacas leiteiras com esse transtorno produziram 557 kg de leite a menos em comparação a animais sadios, desde o parto até 60 dias após o diagnóstico. Segundo Raizman e Santos (2002), a perda de produção de leite acontece nos primeiros 4 meses de lactação e as vacas acometidas por DAE apresentam maior intervalo do parto até a primeira inseminação artificial. Outros custos eventuais resultantes são o custo referente à perda do animal, caso venha a óbito, e custos referentes às doenças secundárias ao DAE. Segundo Bartlett et al. (1995), as despesas com cada caso de DAE variam entre US\$200 e US\$400 (Bartlett et al., 1995) envolvendo custos cirúrgicos, desempenho da

lactação, custo de reposição da vaca e valor de abate do animal. Baseado nos valores descritos por Bartlett et al. (1995), Andrade (2005) estimou os custos de dois casos de DAE que ocorreram na região do Planalto Riograndense. Para tal, estimou gráficos de produção esperada de leite para cada animal e calculou as despesas com medicamentos e custos cirúrgicos. Os animais analisados encontravam-se na 1ª e 3ª lactação quando da ocorrência de DAE, de modo que a produção esperada de leite foi calculada através da média de produção de animais em 1ª e 3ª lactação no rebanho, respectivamente (Figura 2). Observa-se que a queda na produção de leite de animais acometidos por DAE pode perdurar entre 3 a 6 meses, sendo um prejuízo considerável em termos financeiros. Os animais foram submetidos à correção cirúrgica do deslocamento de abomaso, de modo que somado ao custo decorrente da queda na produção leiteira está o custo do procedimento cirúrgico e os medicamentos utilizados (Tabela 1). As perdas totais decorrentes da doença foram de US\$ 496,63. Desta forma os valores encontrados ultrapassaram os descritos por Bartlett et al. (1995), demonstrando a importância da prevenção dessa doença. Convém ressaltar que não estão incluídos nestes cálculos os custos referentes à eventual perda de animais decorrentes da doença ou custos com doenças secundárias ao DAE, bem como os custos referentes ao deslocamento do médico veterinário até a propriedade. Fleischer (2001) cita que o deslocamento de abomaso está relacionado com a produção de leite: quanto maior a produção, maior o risco de desenvolver DA. Geralmente, as vacas que desenvolvem deslocamento de abomaso são animais de alta produção,

mas devido ao DA o animal apresenta um baixo desempenho em produção leiteira na lactação corrente.

Patogenia

Existem doenças associadas que predisõem o DA, como aquelas que resultam em anorexia e inapetência, devido a uma diminuição do volume ruminal. Uma menor ingestão de matéria seca (IMS), especialmente no período de transição, é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento do DA, devido ao menor volume ruminal. Radostits et al. (2006) relatam que dietas pré-parto com alta densidade energética como preparação para o início da lactação, aumentam os fatores de risco para o DA. Logo, o consumo de fibra efetiva é importante para o ruminante e não deve ser menosprezado no momento das formulações da dieta. A cetose comumente diagnosticada antes do DA está fortemente associada com o problema, uma vez que reduz o consumo de matéria seca e o preenchimento ruminal, diminuindo a motilidade dos demais estômagos e, potencialmente, a motilidade do abomaso (Van Winden et al., 2003b). Cardoso et al. (2008) encontraram valores de BHB de $1,14 \pm 1,1$ mmol/L para animais com DA e de $0,69 \pm 0,28$ mmol/L no grupo controle, relacionando os valores aumentados de BHB ao maior risco de DA, e confirmando os dados encontrados por Van Winden et al (2002). Um estudo desenvolvido com 528 vacas de leite indicou que vacas com valores de BHB $>1,6$ mmol/L durante as primeiras duas semanas pós-parto tem 6,9 vezes mais chance de

desenvolver DA quando comparadas com vacas que possuem menores concentrações de BHB sanguíneo (Suthar et al., 2013).

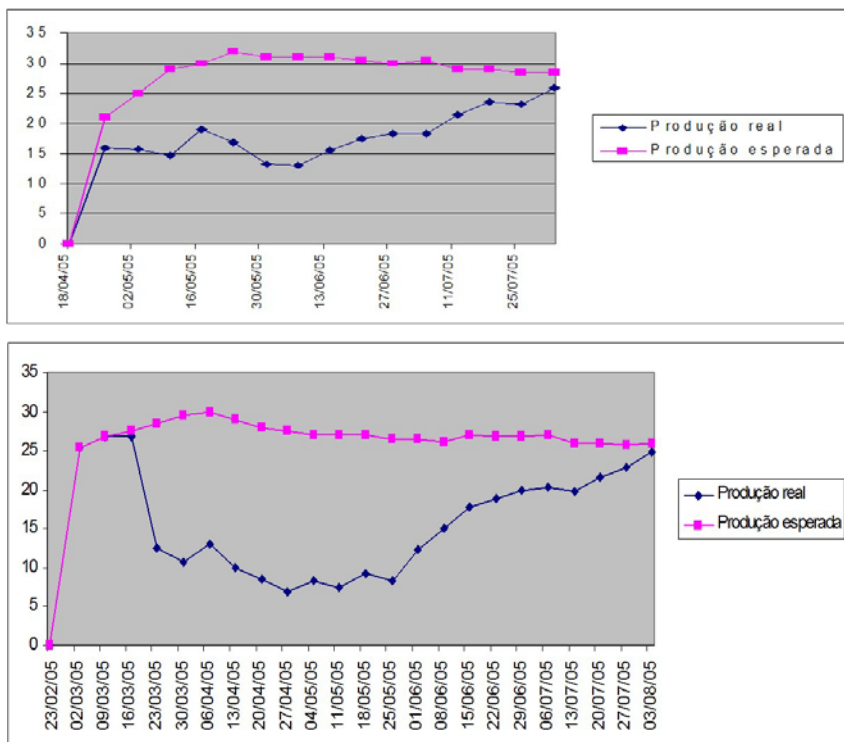


Figura 2. O gráfico acima compara a produção de leite de uma vaca com DAE em 1ª lactação em comparação com a produção esperada. O gráfico embaixo compara a produção de leite de uma vaca com DAE em 3ª lactação com a produção esperada (Andrade, 2005)

Tabela 1. Estimativa de despesas totais decorrentes de DAE em bovinos leiteiros (Andrade, 2005).

Item	US\$
Perdas em produção de leite	265,75
Terapia medicamentosa	35,58
Tratamento cirúrgico	196,30
Total	496,63

A hipocalcemia também é uma patologia predisponente ao DA. Os níveis sanguíneos de cálcio afetam diretamente a motilidade do abomaso, de forma que em concentrações abaixo de 4,8 mg/dL não há motilidade. Massey et al. (1993) conduziram um estudo com 510 vacas leiteiras e concluíram que todos os animais diagnosticados com hipocalcemia antes do parto (< 7,9 mg/dL) tiveram 4,8 vezes mais chances de desenvolver DA. Com o intuito de prevenir a hipocalcemia e consequentemente o DA, a diferença cátionaniônica da dieta (DCAD) pode ser utilizada durante as três últimas semanas pré-parto. Em alguns casos, a porção deslocada do abomaso fica presa entre o retículo e o diafragma, o que resulta em um estado de inanição severa e compromete a digestão e o movimento da ingesta. Uma alcalose metabólica leve com hipocloremia e hipocalemia são comuns, devido provavelmente à atonia abomasal e contínua secreção de ácido clorídico com prejuízo no fluxo de alimento para o duodeno (Howard & Smith, 1999).

Nos casos de DA à direita, pode haver um comprometimento maior do abomaso devido à possibilidade de ocorrência de vólvulo em diferentes graus, podendo chegar até 360°. Este *loop* ocorre no sentido anti-horário tendo como ponto de visão o posterior do animal ou o lado direito. A ingestão diminuída de líquido e o sequestro de grandes

volumes de ácido clorídico no abomaso levam à desidratação e volemia (Gesihauer & Schemann, 1998). O vólculo pode provocar uma obstrução do fluxo sanguíneo através do abomaso. Este fato pode levar a congestão, edema, e, eventualmente, necrose da parede do abomaso (Habel et al, 1981).

Cardoso et al. (2008) realizaram um estudo sobre as variações do hemograma e perfil bioquímico sanguíneo em vacas com DAE. Concluíram que em vacas acometidas por esse transtorno a produção de leite, o peso e o escore de condição corporal diminuem. O tempo de redução do azul de metileno (TRAM) é significativamente menor em animais com DAE. Os valores séricos de lactato, BHB, ácidos graxos livres, ureia e AST apresentam-se aumentados, enquanto os de proteína total, albumina e colesterol diminuem nos animais com DAE. Portanto, esses metabólitos são indicativos para o prognóstico e tratamento desta afecção.

Diagnóstico

Rosemberger (1990) descreveu os sinais observados no DA. Frequentemente os animais apresentam uma queda brusca no consumo de grãos enquanto ainda continuam consumindo forragens. As fezes apresentam-se moles e reduzidas sendo que períodos de diarreia quase sempre ocorrem. A temperatura retal e as frequências cardíaca e respiratória encontram-se normais na maioria dos casos. Os movimentos ruminais apresentam-se diminuídos na sua frequência e intensidade. Animais com um quadro agudo de vólculo ficam deitados 24 horas após

o episódio e podem vir a óbito dentro de 48 a 96 horas devido ao choque e desidratação. Nos casos de DAE, o diagnóstico pode ser realizado através da auscultação e percussão do flanco esquerdo localizando-se o som metálico característico de “ping” (Rosenberger, 1990). A maioria dos deslocamentos pode ser encontrada no meio de uma linha imaginária estabelecida entre a tuberosidade coxal esquerda e o cotovelo esquerdo. O “ping” pode estar localizado desde a nona costela até a fossa paralombar esquerda. Caso exista dúvida na origem do “ping” entre rúmen ou abomaso, pode-se realizar uma aspiração do líquido presente na região de gás e aferir o pH, que deve diferenciar entre rúmen (pH 6-7) e abomaso (pH 2-3) (Rosenberger, 1990). Nos casos de DA à direita as técnicas de diagnóstico são as mesmas do DAE. Deve-se ter o cuidado de diferenciar quaisquer outras patologias que possam provocar o “ping” no flanco direito. A mais comum é a dilatação e/ou torção de ceco que pode ser diferenciada através de palpação retal (Howard & Smith, 1999).

Fatores genéticos

Fatores genéticos têm sido aceitos como um dos fatores predisponentes para a ocorrência de DA. A herdabilidade (h^2) foi estimada entre 0,15 a 0,3 para DA em geral (Uribe et al., 1995; Zwald et al., 2004) e até 0,53 para DAE (Hamann et al., 2004). Vários *loci* de características quantitativas (QTL) para DA têm sido identificados em vacas Holandesas (Mömke et al., 2008), entre eles, o *locus* proximal no cromossomo 23 (BTA23). Uma vez que o DA é precedido por uma diminuição da motilidade do abomaso, o gene motilina (MLN)

localizado proximalmente no BTA23, que codifica um pequeno hormônio regulador da contração gastrointestinal, é um dos genes importantes e necessita ser estudado. Mömke et al. (2012) identificaram um polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) que afeta o sítio de ligação NKX2-5 dentro do gene bovino MLN. Esse polimorfismo mostrou estar correlacionado com uma diminuição significativa na expressão do MLN e com um significativo aumento da incidência de DAE em vacas Holandesas. Esse é o primeiro polimorfismo demonstrando uma associação com o DAE e pode ser utilizado como teste de suscetibilidade nessa raça. Zwald et al. (2004) encontraram uma correlação genética moderada entre DA e cetose ($0,45 \pm 0.16$) na primeira lactação de vacas Holandesas nos Estados Unidos. Neuenschwander et al. (2012) encontraram uma alta correlação genética ($0,58 \pm 0.13$) entre DAE e cetose com vacas Holandesas no Canadá.

Tratamento

Os principais objetivos do tratamento do DA para esquerda ou para a direita ou vólculo são de recolocar o abomaso em sua posição original ou aproximada, criar uma ligação permanente nesta posição, corrigir o balanço eletrolítico e a desidratação do animal e providenciar tratamento apropriado para doenças associadas. Nenhuma das técnicas permite a identificação exata do local de fixação do abomaso e existe a possibilidade de vazamento de líquido abomasal no abdomen, ocasionando peritonite. Podem ocorrer complicações, como a fixação de outras estruturas (como o rúmen e o intestino) ou fixar o abomaso em

uma posição equivocada (Fubini & Ducharme, 2004). A escolha da técnica deve ser aquela em que o cirurgião esteja mais habituado e em que se sinta mais confortável realizando, uma vez que todas elas apresentam resultados e períodos de recuperação semelhantes.

A abomasopexia pelo flanco esquerdo é utilizada para visualizar uma porção do abomaso com o animal em pé. A colocação das suturas na região paramediana ventral direita deve ser feita cuidadosamente para evitar a fixação de outras estruturas ao mesmo tempo na sutura (Howard & Smith, 1999). A omentopexia pelo flanco direito é uma técnica muito bem aceita, mas deve-se ter cuidado, pois muita força é disposta sobre o omento no momento da sutura (Fubini & Ducharme, 2004). Todos os animais com DA ou vólculo apresentam algum distúrbio eletrolítico. A composição do fluido administrado pode ser ajustada conforme o perfil bioquímico destes animais. Soluções isotônicas salinas e Ringer são comumente utilizadas e apresentam bons resultados (Huhn & Nelson, 1995). O volume de líquido a ser administrado depende do grau de desidratação do animal. A hidratação oral pode ser utilizada, mas não é substituível à administração endovenosa, quando o animal apresenta um grau de desidratação igual ou maior que 8%. A utilização de antimicrobiano fica a critério do médico veterinário que deve levar em consideração o tempo do procedimento, assepsia do tratamento cirúrgico e a manipulação que foi realizada no procedimento (Howard & Smith, 1999).

Controle

Por se tratar de uma doença multifatorial, a identificação dos fatores predisponentes é a melhor forma de prevenção. A diminuição na ingestão de matéria seca no pré-parto e o gradual aumento na ingestão no pós-parto são fatores de risco, pois causam menor preenchimento ruminal e aumento na incidência de doenças relacionadas ao período pós-parto. Retenção de membranas fetais, metrite, cetose clínica ou subclínica e hipocalcemia são fatores de risco prováveis ao desencadeamento de DAE. Da mesma forma, quantidades excessivas de concentrado ou aumento repentino na quantidade de concentrado fornecido durante o período pós-parto aumentam o risco de ocorrer DAE, pois a maior concentração de AGV no conteúdo abomasal leva à diminuição da motilidade abomasal e do seu esvaziamento, com consequente excesso de gás no abomaso (Radostits et al, 2006). A alimentação e o manejo adequados impedem distúrbios no período pré e pós-parto, reduzindo o risco de DA. Alguns princípios são importantes na prevenção da doença, como o ajuste da dieta durante o período seco para evitar que as vacas estejam obesas no momento do parto, facilitar o processo de adaptação das vacas em início de lactação (tanto nutricional quanto socialmente), otimizar a IMS nos períodos pré e pós-parto imediato, garantir água e alimentação palatável à vontade para as vacas em período periparturiente e não exceder de 1,65 Mcal EL/Kg de MS em densidade energética da dieta no período próximo ao parto. A utilização de feno como fonte de fibra durante o período seco é essencial para o enchimento do rúmen, fermentação ruminal e motilidade do trato

gastrointestinal (Goff & Horst, 1997). Uma dieta rica em fibras causa uma expansão física do rúmen, promovendo uma barreira contra a migração do abomaso. Uma característica importante é que a fonte de fibra fornecida durante o período seco deve ser a mesma fornecida durante o período inicial da lactação, pois isso permite uma adaptação mais rápida da fermentação ruminal (Curtis et al., 1985). Fornecer uma dieta rica em forragens é uma das mais comuns e mais eficazes formas de manejo estratégico para minimizar a ocorrência de DAE durante o período periparturiente. Isto implica em garantir no mínimo um teor de 17% de fibra na dieta (Radostitis, 2007).

O fornecimento de propilenoglicol resulta numa menor incidência de DA quando utilizada como tratamento metafilático no pós-parto imediato. Esse fato se deve às propriedades gliconeogênicas que incrementam as concentrações plasmáticas de glicose e insulina e diminuem as concentrações de ácidos graxos não esterificados e de BHB (Studer et al., 1993). Uma alternativa é utilizar monensina na forma de cápsulas de liberação controlada, visto que a monensina é um antibiótico ionóforo que altera a produção de AGV em favor da produção de propionato, o maior precursor de glicose no ruminante. Desta forma, os efeitos da monensina são mediados por melhora no balanço energético e consequente diminuição na incidência de cetose subclínica, DAE e outras doenças metabólicas. A administração de monensina CRC (*controlled-release capsule*) 3 semanas antes do parto diminui as concentrações de ácidos graxos não esterificados e BHB e aumenta a concentração de colesterol e ureia sérico na semana imediatamente após o parto (Duffield et al., 2005). Isto indica um metabolismo energético

mais efetivo em vacas que recebem monensina CRC, o que é importante para a prevenção de retenção de placenta e cetose clínica, além da prevenção de DAE. Pode-se esperar por uma redução de 40% na ocorrência de DAE e cetose clínica com a administração pré-parto de monensina CRC e 25% menos ocorrências de retenção de placenta (Radostitis et al., 2006).

Conclusão

Pelas perdas e incidência apresentadas por esta patologia, fica claro que é um problema extremamente importante na atividade leiteira, e que deve receber especial atenção no que diz respeito à prevenção. Cerca de 30% destas perdas ocorrem antes do diagnóstico e, além das perdas em produção leiteira, terapêutica medicamentosa e procedimento cirúrgico, devem-se considerar as eventuais perdas de animais, sejam decorrentes ou secundárias desta patologia, e o fato que estes animais ficam mais susceptíveis a outras enfermidades. Entre as diversas causas da inapetência, algumas devem receber atenção especial, tais como, a nutrição [relação energia x fibra (FDN e FDA)], o estresse ambiental (calor, confinamento, etc), e todas as situações que possam desencadear a febre (doenças, parto, lesões de cascos, etc). A cetose é um destes prognósticos mais comuns, devido ao balanço energético negativo que se instala, justamente pela inapetência neste período. Manter a ingestão normal durante o período de transição, não só evita a mobilização de gordura como fonte energética, como também, preserva a barreira ruminal ao DAE, pelo consumo de matéria seca.

Referências

- Andrade, E.L.C. 2005. Deslocamento de abomaso à esquerda em bovinos. Monografia (Graduação), Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 56 p.
- Bartlett, P. C. et al. 1995. Economic comparison of the pyloromentopexy vs the roll-and-toggle procedure for treatment of left displacement of the abomasum in dairy cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 206, 1156-1162.
- Cardoso, F.C. et al. 2008. Hematological, biochemical and ruminant parameters for diagnosis of left displacement of the abomasum in dairy cows from Southern Brazil. *Pesq. Agropec. Bras.* 43, 1411-147.
- Curtis, C.R. et al. 1985. Path analysis of dry period nutrition, postpartum metabolic and reproductive disorders and mastitis in Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 68, 2347-2360.
- Dawson, L. et al. 1992. Influence of fiber form in a complete mixed ration on incidence of left displacement abomasum in postpartum dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 200, 1989-1992.
- Detilleux, J.C.; Grohn, Y.T.; Eicker, S.W.; Quaas, R.L. 1997. Effects of left displaced abomasum on test day milk of Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 80, 121-126.
- Duffield, T.F. et al. 2005. The impact of controlled release capsules of monensin on postcalving haptoglobin concentrations in dairy cattle. *Canadian Journal of Veterinary Research* 69, 208-214.
- Fleischer P. et al. 2001. The relationship between milk yield and the incidence of some diseases in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 84, 2025-2035.
- Fubini, S.L.; Ducharme, N.G. 2004. *Farm Animal Surgery*. St. Louis: W.B. Saunders, 607 p.

- Gesihouser, T.; Reiche, D.; Schemann, M. 1998. In vitro motility disorders associated with displaced abomasum in dairy cows. *Neurogastroenterology and Motility* 10, 395-401.
- Goff, J.P.; Horst, L.R. 1997. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science* 80, 1260-1268.
- Habel, R.E. et al. 1981. Volvulus of the bovine abomasums and omasum. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 179, 447-455.
- Hamann, H. et al. 2004. Relationships between lactational incidence of displaced abomasum and milk production traits in German Holstein cows. *Journal of Veterinary Medicine Series A* 51, 203-208.
- Howard, J.L.; Smith, R.A. 1999. *Current veterinary therapy: Food Animal Practice*. 4th ed. Edinburg: W.B. Saunders, 766 p.
- Huhn, J.C.; Nelson, D.R. 1995. Right-sided abomasal problems in dairy cattle. *Veterinary Medicine* 90, 1169-1174.
- Massey, C.D. et al. 1993. Hypocalcemia at parturition as a risk factor for left displacement of the abomasum in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 203, 852-853.
- Mömke, S. et al. 2008. Mapping quantitative trait loci for milk performance traits in German Holstein cows affected by left-side displaced abomasum (LDA). *Journal of Dairy Science* 91, 4383-4392.
- Mömke, S. et al. 2012. Transcription factor binding site polymorphism in the *motilin* gene associated with left-sided displacement of the abomasum in German Holstein cattle. *PLoS ONE*, 7, n. 4.
- Neuenschwander, TF. et al. 2012. Genetic parameters for producer-recorded health data in Canadian Holstein cattle. *Internacional Journal of Animal Bioscience* 6, 571-578.
- Radostits, O.M. et al. 2000. *Veterinary Medicine*, 9th ed. Edinburg: W.B. Saunders, 1877 p.

- Radostits, O.M. et al. 2006. *Veterinary Medicine*, 10th ed. Edinburg: W. B. Saunders, 2156 p.
- Raizman, E.A.; Santos, J.P. 2002. The effect os left displacement of abomasums corrected by toggle-plin suture on lactation, reproduction, and health of Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* 85, 1157-1164.
- Rosenberger, G. 1990. *Exame clínico dos bovinos*. 3^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 193-200.
- Shaver, R.D. 1997. Nutritional risk factors in the etiology of left displaced abomasum in dairy cows: a review. *Journal of Dairy Science* 80, 2449-2453.
- Suthar, V.S. et al. 2013. Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *Journal of Dairy Science* 96, 2925-2938.
- Studer, V.A.; Grummer, R.R.; Bertics, S.J. 1993. Effect of prepartum propylene glycol administration periparturient fatty liver in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 76, 2931-2939.
- Tabeleao, V.C. et al. 2005. Ocorrência de deslocamento de abomaso em rebanhos leiteiros na região Centro-Sul do Paraná. In: Congresso de Iniciação Científica, 14. Anais. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas.
- Trent, A.M. 1990. Surgery of the bovine abomasum. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 6, 399-448.
- Turner, A.S.; McIlwrath, C.W. 1985. Cirurgia gastrointestinal do bovino. In: *Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte*. São Paulo: Roca, p. 235-262.
- Uribe, H.A. et al. 1995. Genetic parameters for commom health disorders of Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 93, 3561-3568.
- Van Winden et al. 2002. Studies on the pH value of abomasal contents in dairy cows during the first 3 weeks after calving. *Journal of Veterinary Medicine Series A* 49, 157-160.

- Wolf, V. et al. 2001. Influences on the occurrence of abomasal displacements in German Holstein cows. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 108, 403-408.
- Zwald, N.R. et al. 2004. Genetic selection for health traits using producer-recorded data. II. Genetics correlations, disease probabilities, and relationships with existing traits. *Journal of Dairy Science* 87, 4295-4302.