

LAUDÍ CUNHA LEITE

DIFERENTES BALANÇOS CATIÔNICOS-ANIÔNICOS DA DIETA EM VACAS DA RAÇA HOLANDESA

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. José Luciano Andriguetto

CURITIBA

2002



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação do Candidato ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área Produção Animal LAUDÍ CUNHA LEITE após a realização desse evento, exarou o seguinte Parecer:

- 1) A Tese, intitulada “**DIFERENTES BALANÇOS CATIÔNICOS-ANIÔNICOS DA DIETA EM VACAS DA RAÇA HOLANDESA**” foi considerada, por todos os Examinadores, como um louvável trabalho, encerrando resultados que representam importante progresso na área de sua pertinência.
- 2) O Candidato se houve muito bem durante a Defesa de Dissertação, respondendo a todas as questões que foram colocadas.

Assim, a Comissão Examinadora, ante os méritos demonstrados pelo Candidato, atribuiu o conceito “A” concluindo que faz jus ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área de Produção Animal.

Curitiba, 10 de julho de 2002.

Prof. Dr. JOSÉ LUCIANO ANDRIGUETTO
Presidente/Orientador

Prof. Dr. PAULO ROSSI JUNIOR
Membro

Profa. Dra. CRISTIANE OTTO DE SÁ
Membro

Dedico este trabalho à minha noiva Meiby,
aos meus pais Lauro e Doroti, aos meus
irmãos Lauro Jr, Laurí, Lilian, Lucimara e
Letícia e aos demais membros da família.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa concedida.

Ao Prof. Dr. José Luciano Andriguetto pela orientação, amizade e incentivo.

Ao Marcos Epp pela amizade e abertura da Chácara Vitória para a realização deste trabalho.

À Prof. Rita Maria Venancio Mangrich Rocha pela colaboração nas análises de cálcio.

À Prof. Sônia Cachoeira Stertz pela paciência e dedicação que possibilitaram as análises de cloro e enxofre dos alimentos.

À Meiby Carneiro de Paula pelo companheirismo e colaboração em todas as fases deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Luiz Antônio Correa Lucchesi pela abertura do Laboratório de Fertilidade do Solo do Departamento de Solos da Universidade Federal do Paraná, onde foram realizadas as análises de sódio e potássio.

Ao Prof. Dr. Renato João Sossela de Freitas pela abertura do Laboratório do Curso de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos do Departamento de Engenharia de Química do Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná.

Ao Prof. Henrique Soares Koehler pelo auxílio nas análises estatísticas.

À Nuvital Nutrientes Ltda pela doação dos sais aniônicos.

Ao Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Paraná.

À Universidade Federal do Paraná.

À Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	viii
LISTA DE SIGLAS	ix
LISTA DE SÍMBOLOS	x
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 METABOLISMO DE CÁLCIO E VITAMINA D	3
2.2 PAREZIA DA PARTURIENTE	7
2.3 BALANÇO CATIÔNICO-ANIÔNICO DA DIETA	10
2.3.1 Mecanismo de Ação do Uso da DCAD	14
2.3.2 Método de Formulação da Dieta Aniônica	19
2.3.3 Monitoramento do Uso de Sais Aniônicos	20
2.3.4 Efeito da Manipulação do Equilíbrio Ácido-Básico sobre a Incidência de Paresia da Parturiente	22
2.3.5 Efeito da Manipulação do Equilíbrio Ácido-Básico sobre os Níveis de Cálcio Sangüíneo	28
2.3.6 Efeito da Manipulação do Equilíbrio Ácido-Básico sobre o pH Urinário	36
3 MATERIAL E MÉTODOS	40
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
4.1 INCIDÊNCIA DE PAREZIA DA PARTURIENTE	44
4.2 CONCENTRAÇÕES DE CÁLCIO TOTAL E CÁLCIO IÔNICO	46
4.3 PH URINÁRIO	49
5 CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS	54

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

TABELA 1	-	COMPOSIÇÃO DAS DIETAS	41
TABELA 2	-	MÉDIA E DESVIO-PADRÃO PARA A PRODUÇÃO DE LEITE NA LACTAÇÃO ANTERIOR E NÚMERO DE PARTOS NOS GRUPOS	44
TABELA 3	-	RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA CÁLCIO TOTAL (Ca_t) E CÁLCIO IÔNICO (Ca_i)	46
TABELA 4	-	MÉDIA E DESVIO-PADRÃO OBTIDOS PARA A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE CÁLCIO TOTAL (Ca_t) E DE CÁLCIO IÔNICO (Ca_i), NOS TRATAMENTOS E PERÍODOS DE COLHEITA	47
FIGURA 1	-	DISTRIBUIÇÃO DAS VACAS SEGUNDO O NÍVEL DE PRODUÇÃO DE LEITE NA LACTAÇÃO ANTERIOR	49
TABELA 5	-	RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA O PH URINÁRIO	49
TABELA 6	-	MÉDIA E DESVIO-PADRÃO OBTIDOS PARA O PH URINÁRIO NOS TRATAMENTOS E PERÍODOS DE COLHEITA	50
TABELA 7	-	CÁLCIO TOTAL (Ca_t), CÁLCIO IÔNICO (Ca_i) E PH URINÁRIO DE DIVERSOS TRABALHOS COM DCAD	51

LISTA DE SIGLAS

BCAD	- Balanço Catiônico-Aniônico da Dieta
DCAD	- Diferença Catiônica-Aniônica da Dieta
MS	- Matéria Seca
NNP	- Nitrogênio Não Protéico
PB	- Proteína Bruta
pH	- Potencial Hidrogeniônico
PTH	- Paratormônio
PTHrP	- Peptídio Relacionado ao Paratormônio
PUCPR	- Pontifícia Universidade Católica do Paraná
UFPR	- Universidade Federal do Paraná

LISTA DE SÍMBOLOS

%	- Percentagem
1,25-(OH) ₂ D	- 1,25-Diidroxicolecalciferol
25-OHD	- 25-Hidroxicolecalciferol
Al ₂ (SO ₄) ₃	- Sulfato de Alumínio
Ca	- Cálcio
CaCl ₂	- Cloreto de Cálcio
CaCO ₃	- Carbonato de Cálcio
Ca _i	- Cálcio iônico
CaSO ₄	- Sulfato de Cálcio
Ca _t	- Cálcio total
Cl	- Cloro
CO ₂	- Gás Carbônico
dL	- Decilitro
Eq	- Equivalente-grama
g	- Grama
H	- Hidrogênio
H ₂ SO ₄	- Ácido Sulfúrico
HCl	- Ácido Clorídrico
HCO ₃	- Íon Bicarbonato
K	- Potássio
kg	- Kilograma
KHCO ₃	- Bicarbonato de Potássio
mEq	- Miliequivalente-grama
Mg	- Magnésio
mg	- Miligrama
MgCl ₂	- Cloreto de Magnésio
MgSO ₄	- Sulfato de Magnésio
mL	- Mililitro

mmol	- Milimol
Na	- Sódio
Na ₂ EDTA	- Etileno Diamino Tetracetato Dissódico
NaCO ₃	- Carbonato de Sódio
NaHCO ₃	- Bicarbonato de Sódio
nEq	- Nanoequivalente-grama
NH ₄	- Amônia
NH ₄ Cl	- Cloreto de Amônio
(NH ₄) ₂ SO ₄	- Sulfato de Amônio
NH ₄ HSO ₄	- Bissulfato de Amônio
S	- Enxofre
SO ₄ ²⁻	- Sulfato
Vitamina D ₂	- Ergocalciferol
Vitamina D ₃	- Colecalciferol

RESUMO

A paresia da parturiente ocorre devido a uma falha no metabolismo de cálcio que não consegue suprir rapidamente a demanda abrupta de cálcio imposta pelo início da lactação. Esta doença metabólica traz grandes prejuízos aos produtores de leite e está associada com o aumento na incidência de outras doenças. Os objetivos deste trabalho foram avaliar os efeitos de três dietas, com balanços catiônicos-aniônicos da dieta (BCAD) de +122,1, -8,8 e -110,4 mEq/kg de MS, fornecidas durante quatro semanas antes do parto para os grupos 1, 2 e 3, respectivamente, sobre as concentrações de cálcio iônico e cálcio total plasmáticos e sobre o pH urinário. Foram utilizadas 21 vacas da raça Holandesa em um delineamento experimental inteiramente casualizado, no esquema de parcela subdividida, com sete repetições. As amostras de plasma foram colhidas junto com o início da dieta, até 12 horas depois e com 1, 2, 3 e 7 dias depois do parto e chamadas de períodos de colheitas 1, 2, 3, 4, 5 e 6, respectivamente. As amostras de urina foram colhidas semanalmente do início da dieta até o parto e foram agrupadas para a análise em três períodos, sendo o período 1 as colheitas realizadas no início do experimento, o período 2 as colheitas realizadas entre 20 e 11 dias antes do parto e o período 3 as colheitas realizadas entre 10 dias antes e o parto. A incidência de paresia da parturiente e de hipocalcemia subclínica não diferiram entre os grupos. Os níveis de cálcio iônico e total plasmáticos não diferiram entre os grupos para nenhum dos períodos estudados e nem para a interação dieta e período de colheita, mas houve diferenças significativas ($P < 0,01$) entre os períodos de colheitas. O dia do parto teve os menores valores tanto para o cálcio total (7,52 mg/dL) quanto para o cálcio iônico (3,974 mg/dL). O pH urinário diferiu significativamente entre as dietas ($P < 0,05$), períodos de colheitas ($P < 0,01$) e interação dieta e períodos de colheitas ($P < 0,05$). O grupo 3 teve o menor valor de pH urinário ($P < 0,05$) no período de colheita 2 (7,238) em relação ao período 1 (8,094) e em relação ao grupo 1 (8,045) para o mesmo período. O fornecimento de dieta aniônica, através da inclusão de sais aniônicos ao concentrado, não teve efeito sobre as concentrações de cálcio iônico e total, reduziu o pH urinário e não impediu a ocorrência de hipocalcemia subclínica.

Palavras-chave: Dieta Aniônica; Paresia da Parturiente; Período de Transição; Vacas Secas.

ABSTRACT

Milk fever occurs due to the inability of the lactating cow to adequately respond to the sharp increase in calcium demand in the beginning of lactation. This metabolic disease causes great losses to milk producers and is associated with the increased incidence of other problems. The objective of the present experiment was to evaluate the effect of three different levels of dietary cation-anion balance (DCAB) (+122,1; -8,8; and -110,4 mEq/kg DM) offered for four weeks to groups 1, 2 and 3, respectively, on the plasma levels of ionized calcium and total calcium, and on urine pH. Twenty-one Holstein cows were used in a split plot in time design with seven replications; DCAB was effects in the main plot, and sample collection period was effects in the subplot. Plasma samples were collected from the jugular vein at the beginning of treatment and until 12 hours, 1, 2, 3 and 7 days after calf birth (collection periods 1, 2, 3, 4, 5 and 6, respectively). Urine samples were taken weekly from the beginning of treatment until delivery and were grouped, for the analysis, in three periods. Period 1 is the initiation of the treatment, period 2 extends from 10 to 20 days prepartum, and period 3 extends from 10 days ahead until the day of delivery. Incidence of milk fever and subclinic hipocalcemia did not differ between groups. There was no significant effect of treatment or of the interaction treatment and period on the plasma levels of ionized calcium or total calcium, but there was a significant difference ($P < 0.01$) on those levels for the sample collection period. The lowest levels of both ionized calcium (3.974 mg/dL) and total calcium (7.52 mg/dL) were observed at the day of delivery. Urine pH varied significantly among treatments ($P < 0.05$), sample collection period ($P < 0.01$) and their interaction ($P < 0.05$). Group 3 showed the lowest pH value ($P < 0.05$) at collection period 2 (7.238) compared to period 1 (8.094) and to group 1 (8.045) for the same period. Feeding an anionic diet, by the inclusion of anionic salts to the concentrate feed, had no effect on plasma concentrations of ionized and total calcium, reduced urine pH and did not avoid the occurrence of subclinic hipocalcemia.

Key-words: Anionic Diet; Milk Fever; Transition Period; Dry Cow.

1 INTRODUÇÃO

O manejo e a nutrição de vacas secas, especialmente nas últimas três semanas de gestação, são negligenciados na maioria das vezes pelos produtores de leite. Este período tem uma grande influência sobre a produção, reprodução e sanidade da vaca leiteira durante o início da lactação e pode refletir em perdas durante toda a lactação.

A produção de leite eficiente requer que se obtenha da vaca uma gestação por ano. A transição do estado de vaca seca e prenha para o estado de vaca vazia e em lactação é um período delicado para as vacas. A maioria das doenças metabólicas (paresia da parturiente, cetose, retenção de placenta e deslocamento de abomaso) ocorre nas primeiras duas semanas de lactação. A etiologia de muitas daquelas doenças metabólicas que não são clinicamente aparentes durante as primeiras duas semanas de lactação, como a laminite, pode ser relacionada a problemas que ocorreram no início de lactação. Além disso, doenças infecciosas, como a mastite, tornam-se aparentes também durante este período (GOFF e HORST, 1997b).

Três funções fisiológicas básicas devem ser mantidas no período de pré e pós-parto imediato para a prevenção destas doenças: adaptação do rúmen a dietas de lactação que são ricas em energia, manutenção da homeostase do cálcio (Ca) e manutenção de um sistema imune forte (GOFF e HORST, 1997b). Neste trabalho, serão abordados apenas os fatores dietéticos ligados a manutenção da homeostase do cálcio.

O início da lactação impõe à vaca uma grande demanda por Ca. Algumas vacas não conseguem se adaptar a esta súbita demanda e entram num quadro de hipocalcemia, chamado de paresia da parturiente (GOFF, 1992).

A paresia da parturiente predispõe a vaca à ocorrência de outras doenças metabólicas (CURTIS et al., 1983), provoca perdas na produção de leite (BLOCK, 1984) e pode levar até a morte da vaca (HORST et al., 1997).

O uso de sais aniônicos ou a manipulação da diferença catiônica-aniônica da dieta (DCAD) tem sido utilizado como um método efetivo na manutenção dos níveis de Ca durante a parição, prevenindo a paresia da parturiente (BLOCK, 1984).

A dieta aniônica provoca uma acidose metabólica moderada. A acidose metabólica aumenta a capacidade de resposta dos tecidos ao hormônio paratormônio (PTH) (BECK e WEBSTER, 1976; GAYNOR et al., 1989; GOFF et al., 1991a; JOYCE et al., 1997) e aumenta o fluxo de Ca através do *pool* de Ca trocável (FREDEEN et al., 1988b; TAKAGI e BLOCK, 1991c), habilitando a vaca a manter os níveis de Ca normal durante a parição.

Os objetivos do presente trabalho foram avaliar os efeitos de diferentes balanços catiônicos-aniônicos da dieta sobre os níveis de cálcio iônico e de cálcio total plasmáticos e sobre o pH urinário em vacas da raça Holandesa.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 METABOLISMO DE CÁLCIO E VITAMINA D

O Ca é requerido para o funcionamento normal de uma grande variedade de tecidos e processos fisiológicos. Ele é necessário para a formação óssea, contração muscular, transmissão nervosa, coagulação sangüínea e como segundo mensageiro na regulação da ação de muitos hormônios (HORST, 1986, citado por HORST et al., 1994).

A concentração de Ca no plasma é de 9 a 10 mg/dL, sendo que 40-45% circula no plasma ligado a proteína, 45-50% na forma livre ou iônica e 5% ligado a componentes orgânicos (citrato) e inorgânicos (NRC, 2001). LINCOLN e LANE (1990) determinaram a concentração de cálcio iônico (Ca_i) no soro de 141 vacas leiteiras clinicamente normais, encontrando um valor de 4,59 mg/dL em média, com variação de 3,79 a 5,25 mg/dL. Estes autores também concluíram que o Ca_i indica melhor o estado clínico e funcional do metabolismo de Ca ao observarem que uma vaca com recidiva de paresia da parturiente tinha concentração de cálcio total (Ca_t) normal e concentração de Ca_i compatível com o quadro de hipocalcemia.

Vertebrados têm um sistema endócrino extremamente complexo para manter a concentração de Ca plasmático e extracelular dentro de limites muito estreitos (GOFF et al., 1991b).

A concentração de cálcio plasmático é regulada pelos hormônios calcitonina, PTH e 1,25-diidroxicolecalciferol ($1,25(OH)_2D$). O PTH e $1,25(OH)_2D$ atuam aumentando a entrada de Ca no plasma e líquidos extracelulares (*pool* extracelular), enquanto que a calcitonina atua de modo inverso (GOFF et al., 1991b).

Quando ocorre uma diminuição do cálcio plasmático, a glândula paratireóide secreta PTH, que dentro de minutos aumenta a reabsorção renal de Ca do filtrado glomerular. Se a concentração de Ca volta ao normal, a secreção de PTH retorna a níveis basais. Se a perda de Ca é grande, a secreção continuada de PTH irá estimular a reabsorção do Ca estocado no osso (GOFF, 1992).

O Ca está presente no osso em duas formas: uma pequena quantidade está em solução nos fluidos que circundam as células ósseas e dentro dos canalículos do osso e a maior quantidade está fortemente ligada a matriz orgânica de colágeno do osso, como depósitos de sais de fosfato. O Ca solúvel está separado do *pool* de Ca extracelular por uma barreira de células ósseas (osteoblastos e seus precursores). Sob estimulação do PTH, este Ca solúvel pode rapidamente ser transferido para o *pool* de Ca extracelular (GOFF, 1992). Segundo VAGG e PAYNE (1970) o tamanho deste *pool* de Ca prontamente trocável pode ser estimado em 6 a 10g de Ca para uma vaca adulta, sendo que o total de Ca no fluido extracelular é cerca de 8 a 10g de Ca.

Se a hipocalcemia persistir, a secreção de PTH continua e isto leva os osteoblastos a liberarem substâncias, como fatores de ativação e prostaglandinas, que estimulam a atividade dos osteoclastos existentes e o recrutamento de novos osteoclastos para reabsorver o Ca depositado no osso (GOFF, 1992). São necessárias 48 horas de estimulação do PTH até que a reabsorção óssea aumente significativamente (GOFF et al., 1986). Também é necessária uma adequada concentração de Ca no fluido extracelular para ação do PTH. Se os níveis de Ca estão abaixo do nível crítico, o aumento na concentração de PTH circulante pode não ser efetivo na elevação do nível de Ca no citosol nas células alvo para ativar novas células para a reabsorção óssea (ROSOL e CAPEN, 1997).

O PTH também irá estimular o metabolismo renal da vitamina D (GOFF, 1992). Ruminantes podem utilizar tanto a vitamina D₂ (ergocalciferol), presente nas forragens, quanto à vitamina D₃ (colecalfiferol) (GOFF et al., 1991b), sintetizada pela maioria dos mamíferos após irradiação ultravioleta, que faz a conversão fotoquímica do 7-deidrocolesterol em vitamina D₃ (NRC, 2001).

A vitamina D₃ absorvida ou sintetizada passa pelo fígado, onde é hidroxilada no carbono 25 por enzimas microssomais, formando a 25-hidroxicolecalciferol (25-OHD), que é a principal forma de vitamina D circulante. Estas enzimas são substratos-dependentes e não parecem ser um obstáculo no controle endócrino deste processo (GOFF, 1992).

Sob a influência do PTH, a 25-OHD é novamente hidroxilada, agora no carbono 1, pela enzima 1α -hidroxilase presente na mitocôndria das células renais. Esta hidroxilação forma a $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, que é a forma ativa da vitamina D (HORST et al., 1994). A atividade da 1α -hidroxilase pode também ser estimulada por baixos níveis de Ca sanguíneo ou inibida por altos níveis de fósforo sanguíneo diretamente (TANAKA e DeLUCA, 1973, citados por GOFF, 1992).

A vitamina D_2 segue um caminho semelhante à vitamina D_3 , até a ativação, e tem a mesma atividade biológica na maioria dos mamíferos. Entretanto, pesquisas recentes têm mostrado que existem diferenças no metabolismo das duas formas de vitaminas em vacas, com aparente discriminação contra a vitamina D_2 (HORST et al., 1994).

A $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ é um hormônio esteróide que circula no sangue ligado a proteína e, cerca de 5%, na forma livre. Na forma livre, este hormônio entra em todas as células devido a sua natureza lipofílica, acumulando-se nos tecidos que possuem receptores intracelulares para $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (HORST et al., 1994).

A regulação do número de receptores para $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ é um importante mecanismo de modulação da resposta celular a este hormônio, sendo que a atividade biológica de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ é proporcional ao número de receptores (CHEN et al., 1986 e HAUSSLER et al., 1988, citados por HORST et al., 1994).

O hormônio $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ atua em sinergismo com o PTH para estimular a atividade osteoclástica, aumentando a reabsorção óssea, e para aumentar ligeiramente a reabsorção tubular renal de Ca. Entretanto, a produção de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ é mais importante pela sua habilidade em estimular o transporte ativo de Ca dietético através do epitélio intestinal (GOFF, 1992).

O Ca da dieta pode ser absorvido por difusão passiva entre as células do epitélio intestinal (transporte pericelular) ou por transporte ativo através das células epiteliais (transporte transcelular) (BRONNER, 1987, citado por GOFF, 1992). O transporte pericelular está fortemente relacionado à concentração de íons Ca no lúmen do intestino (GOFF, 1992).

A absorção eficiente de Ca da dieta, quando este é baixo ou quando a demanda é muito alta, ocorre por transporte ativo de Ca através das células intestinais. Este processo requer $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ para estimular a produção de proteínas que se ligam ao Ca, transportando-o através das células epiteliais. Uma vez que o Ca entre na célula intestinal (processo facilitado pela grande diferença no gradiente de concentração de Ca entre o lúmen intestinal e a célula), ele é transportado até a membrana basolateral com a ajuda de uma proteína de ligação com o Ca dependente da vitamina D. Na seqüência, o Ca é extrusado da célula contra um gradiente de concentração de aproximadamente 1000 vezes, por uma bomba Ca/Mg-ATPase dependente (GOFF, 1992).

Cerca de 24 horas de estimulação de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ são necessárias antes que o transporte intestinal de Ca aumente significativamente (BRAITHWAITE, 1978; GOFF et al., 1986 e HOVE, 1984, citados por HORST et al., 1994).

Um novo hormônio, um peptídeo similar ao PTH (Parathyroid hormone-related peptide - PTHrP) tem sido descrito. Este peptídeo foi inicialmente associado a tumores malignos e chamado de fator humoral de hipercalcemia maligna (GOFF et al., 1991b). Recentemente foi descoberto que o PTHrP é produzido por muitos tecidos, incluindo glândulas endócrinas, músculos (liso, esquelético e cardíaco), cérebro, linfócitos, glândula mamária em lactação, rins, próstata, pulmão, pele e outros tecidos epiteliais simples e osso (CAPEN e ROSOL, 1993a; GRÖNE et al., 1994; PHILBRICK et al., 1996, citados por ROSOL e CAPEN, 1997). Embora muito pouco se saiba sobre a função do PTHrP, ele tem sido mostrado ser um potente estimulador da transferência de Ca através da placenta em ovelhas (ABBAS et al., 1989, citados por GOFF et al., 1991b), está envolvido no transporte de Ca através das células epiteliais da glândula mamária e desempenha um papel no metabolismo de Ca do neonato (GOFF et al., 1991b).

2.2 PARSIA DA PARTURIENTE

A paresia da parturiente ou febre do leite, como é comumente chamada, é um desequilíbrio do metabolismo de Ca que ocorre em vacas leiteiras à parição. Esta doença metabólica é caracterizada por um rápido declínio na concentração de Ca plasmático, resultante de uma perda abrupta de Ca para a formação do colostro. No dia do parto, as vacas podem produzir 10 litros ou mais de colostro contendo 23 g de Ca (2,3 g de Ca/kg), o que é cerca de nove vezes a quantidade presente no *pool* de Ca plasmático (GOFF et al., 1991b). A maioria das vacas consegue se adaptar a esta súbita demanda por Ca, porém algumas vacas falham neste mecanismo de regulação e entram num quadro de hipocalcemia.

Esta doença se caracteriza por sinais clínicos de inapetência, tetania, inibição da defecação e micção, ranger dos dentes, dificuldade de locomoção, evoluindo para decúbito lateral, coma e morte em cerca de 60 a 70% dos animais, se não tratados com medicação a base de Ca endovenoso (HORST et al., 1997).

A paresia da parturiente é economicamente importante, apresentando um elevado custo por caso da doença, baseado no custo do tratamento e na estimativa de perdas na produção de leite (GUARD, 1996, citado por SANCHEZ et al., 2000). Segundo BLOCK (1984), ocorre uma redução de 14% na produção de leite nas lactações de vacas que tiveram episódios de paresia da parturiente contra aquelas que não apresentaram. Há também uma redução na vida produtiva de uma vaca leiteira em 3,4 anos (PAYNE, 1968, citado por CURTIS et al., 1983).

A incidência de paresia da parturiente é de 8-9% em rebanhos leiteiros dos Estados Unidos (SANCHEZ et al., 1992, citados por SANCHEZ e BLAUWIEKEL, 1999). No Brasil, ORTOLANI (1995a) trabalhando com um único rebanho, revelou uma incidência de 4,25%.

CURTIS et al. (1983) encontraram uma associação altamente significativa ($P < 0,0001$) da paresia da parturiente com outras doenças do período periparto, como distocia, retenção de placenta, cetose e mastite, sendo que a paresia da parturiente aumenta em oito vezes a probabilidade de ocorrência de cetose e mastite. Estes autores

encontraram também uma associação significativa ($P < 0,03$) com mastite por coliforme e uma tendência de associação ($P < 0,06$) com deslocamento de abomaso à esquerda.

A paresia da parturiente tem uma forma subclínica, onde as vacas se apresentam hipocalcêmicas ao parto, mas não demonstram sinais clínicos. Em um estudo utilizando 500 vacas na Flórida, foi verificado que 66% das vacas de terceira ou mais lactações tiveram hipocalcemia subclínica (Ca_i do soro $< 4,0$ mg/100 mL) (BEEDE et al., 1992, citados por SANCHEZ e BLAUWIEKEL, 1999). Devido à falta de diagnóstico e conseqüente ausência no tratamento, é possível que a hipocalcemia subclínica tenha um maior impacto econômico sobre a bovinocultura leiteira do que a forma clínica.

Alguns fatores contribuem para uma maior incidência de paresia da parturiente, tais como parição, início da lactação, nível de produção de leite, idade, raça e dieta.

Durante o período seco, quando os requerimentos de Ca são mínimos (feto mais a perda de Ca endógeno fecal exigem apenas 10 a 12 g Ca/dia) os mecanismos de reposição de cálcio estão inativos, mas com a parição e início da lactação a vaca deve trazer mais de 30 g Ca/dia para o *pool* de Ca plasmático. Devido a esta súbita demanda de Ca, todas as vacas apresentam algum grau de hipocalcemia durante o primeiro dia após o parto (HORST et al., 1997).

O risco de paresia da parturiente aumenta com o aumento da produção de leite do rebanho, com o aumento do valor genético da vaca para produção de leite (habilidade prevista de transmissão para produção de leite alta ou filhas de touros com alto valor genético para produção) e com o aumento da produção em lactações prévias (ERB e GROHN, 1988).

Vacas mais velhas têm uma maior incidência de paresia da parturiente devido a uma maior produção de leite (resultando em maior demanda de Ca), menor habilidade de remover Ca ósseo, declínio no transporte ativo de Ca intestinal e produção diminuída de $1,25(OH)_2D_3$ (HORST et al., 1997). HORST et al. (1990) demonstraram que os receptores para $1,25(OH)_2D_3$ e a resposta intestinal à $1,25(OH)_2D_3$ diminuem com a idade. JOHNSON et al. (1995), citados por HORST et al. (1997), confirmaram

os resultados encontrados por HORST et al. (1990) e mostraram que a C_{24} -hidroxilase, uma enzima que inativa a vitamina D, aumenta drasticamente em vacas velhas.

Algumas raças são mais susceptíveis à paresia da parturiente, sendo a mais conhecida no Brasil a raça Jersey. A razão exata para isto não é clara, mas GOFF et al. (1995) encontraram uma menor concentração de receptores intestinais para $1,25(OH)_2D_3$ em vacas da raça Jersey em comparação às da raça Holandesa, ORTOLANI (1995b) afirma que esta raça tem uma maior produção de colostro em relação ao peso vivo em comparação com outras raças e o NRC (2001) coloca que o colostro e o leite de vacas da raça Jersey tem uma maior concentração de Ca do que o leite de vacas da raça Holandesa.

Muitos fatores presentes na dieta das vacas em final de gestação podem afetar a incidência da paresia da parturiente. Dietas ricas em Ca (>100 g/dia) foram associadas a um aumento na incidência de paresia da parturiente (BODA e COLE, 1956, citados por GOFF, 1992). Embora as vacas alimentadas com dietas ricas em Ca tenham maior nível de Ca sanguíneo pré-parto, elas são menos hábeis em manter o nível de Ca normal próximo à parição. Isto se deve ao menor nível de PTH plasmático no pré-parto, devido ao predomínio de células inativas na glândula paratireóide, e ao menor metabolismo ósseo, causado pela liberação de calcitonina pelas células C da tireóide em resposta a concentração elevada de Ca sanguíneo (BLACK et al., 1973, citados por ROSOL e CAPEN, 1997).

A homeostase de Ca em vacas prenhas alimentadas com dietas ricas em Ca parece ser mantida principalmente pela absorção do Ca intestinal. Esta maior dependência da absorção intestinal de Ca do que da reabsorção de Ca do osso é um fator significativo na maior frequência no desenvolvimento de hipocalcemia próximo a parição nestas vacas. Isto se deve a diminuição do Ca disponível para absorção, como resultado da anorexia associada com altos níveis de estrogênio a parição (MUIR et al., 1972, citados por ROSOL e CAPEN, 1997).

Dietas pobres em Ca (<20 g/dia) fornecidas durante as últimas semanas de gestação, seguidas por uma dieta rica em Ca após o parto, reduzem a incidência de paresia da parturiente (GREEN et al., 1981). Fornecendo menos Ca do que o

requerido, coloca a vaca em um balanço negativo, estimulando os mecanismos homeostáticos do Ca antes do parto. GOFF e HORST (1997b), afirmam, porém, que é impossível formular este tipo de dieta na maioria das propriedades leiteiras e que a alimentação com apenas 25 gramas de Ca por dia, já não será mais suficiente para estimular as glândulas paratireóides a prevenir a paresia da parturiente.

Dietas ricas em fósforo (P) (>80 g P/dia) também aumentam a incidência de paresia da parturiente e o grau de hipocalcemia, porque aumentam a concentração de P no sangue, que inibe a enzima que catalisa a produção de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (TANAKA e DeLUCA, 1973, citados por GOFF et al., 1991b).

2.3 BALANÇO CATIÔNICO-ANIÔNICO DA DIETA

Uma das mais significativas descobertas de fatores dietéticos que controlam a paresia da parturiente foi à observação feita por ENDER et al. (1971), citados por HORST et al. (1997). Eles descobriram que fornecendo ácidos inorgânicos (uma mistura de ácido sulfúrico e clorídrico) às vacas no período pré-parto, reduziam significativamente a incidência de paresia da parturiente. Estes autores propuseram que a incidência de paresia da parturiente dependia da abundância de cátions sódio (Na^+) e potássio (K^+) em relação aos ânions cloro (Cl^-) e sulfatos (SO_4^{2-}). Estes resultados não foram publicados imediatamente porque o mecanismo de ação não foi compreendido. Posteriormente, este conceito foi referido como diferença catiônica-aniônica.

O balanço catiônico-aniônico da dieta (BCAD) ou diferença catiônica-aniônica da dieta (DCAD) relaciona-se com o balanço entre os cátions fixos totais (biodisponíveis e não metabolizáveis) e os ânions fixos totais presentes na dieta (WANG et al., 1996).

O conceito é baseado na teoria de íons fortes (STEWART, 1983), na qual qualquer entrada de íons no corpo leva a alteração do equilíbrio ácido-básico. Este conceito foi inicialmente aplicado em aves (MONGIN, 1981).

O BCAD age diretamente no equilíbrio ácido-base de ruminantes adultos, podendo influenciar o desempenho na lactação, o metabolismo do Ca e a utilização do P e manipular outras funções fisiológicas, a fim de beneficiar a saúde e a produtividade das vacas (SETTI et al., 1998).

Os minerais Na, K, Cl e enxofre (S) têm sido utilizados no cálculo da DCAD porque sua importância no metabolismo está associada à sua participação no balanço osmótico, balanço ácido-básico, mecanismo de bombeamento e integridade de membranas celulares (BLOCK, 1994).

Alguns autores não utilizaram o S para o cálculo da DCAD (MONGIN, 1981; FREDEEN et al., 1988a; FREDEEN et al., 1988b; GAYNOR et al., 1989), entretanto, WHITING e DRAPER (1981), demonstraram o efeito acidificante de SO_4^{2-} em fluidos biológicos e os trabalhos de TUCKER et al. (1991), OETZEL et al. (1991) e DELAQUIS e BLOCK (1995) demonstraram que o efeito do S no equilíbrio ácido-base, em vacas leiteiras, é similar ao efeito do Cl.

TUCKER et al. (1991) compararam o efeito do Cl e S em 10 vacas Holandesas primíparas, com média de 120 dias em lactação, arranjadas em quadrado Latino 5x5 duplicado e com três semanas de período experimental. As cinco dietas foram: dieta controle, com DCAD de +30 mEq/100 g de matéria seca (MS) e concentração de Cl e S de 0,3%; duas dietas com DCAD de +15 mEq/100 g de MS, sendo uma com 0,83% de Cl e 0,3% de S (Cl/+15) e outra com 0,39% de Cl e 0,54% de S (S/+15); e duas dietas com DCAD de 0 mEq/100 g de MS, sendo uma com 1,36% de Cl e 0,3% de S (Cl/0) e outra com 0,3% de Cl e 0,78% de S (S/0). A comparação entre Cl e S não foi significativa para nenhum dos indicadores do equilíbrio ácido-básico deste estudo.

OETZEL et al. (1991) compararam o efeito de seis sais aniônicos diferentes, sendo cloretos e sulfatos de magnésio (Mg), Ca e amônio (NH_4^+), fornecidos na dose de 2 Eq/vaca por dia, durante uma semana, a 12 vacas secas e vazias, em um quadrado Latino 6x6 duplicado. Não houve diferença entre os sais aniônicos para mudança de peso corporal, ingestão de MS, e também para pH, pressão parcial de gás carbônico (CO_2), íon bicarbonato (HCO_3^-) e excesso de base no sangue, Ca_i no soro, ou Ca na urina. O cloreto de amônio causou maior redução no pH e no excesso de base

urinários, enquanto que o sulfato de magnésio causou a menor redução. O sulfato de cálcio causou o maior aumento na excreção fracional de Ca_i . Todos os sais aniônicos testados exibiram um potencial similar sobre o balanço ácido-básico sistêmico.

DELAQUIS e BLOCK (1995) trabalharam com 20 vacas secas da raça Holandesa, divididas em dois grupos e em dois períodos experimentais de 28 dias, sendo 18 dias de adaptação e 10 dias para coleta de amostras. Os grupos apresentaram dietas com DCAD de +481 ou +327 mEq/Kg MS, obtidos pela maior concentração de K ou S. A concentração do íon hidrogênio (H^+) foi maior e a concentração e excreção total de HCO_3^- foram 34% e 43% menores, respectivamente, na urina do grupo com DCAD +327. Embora neste trabalho não ocorreu uma comparação direta entre Cl e S, os resultados obtidos são comparáveis aos de FREDEEN et al. (1988a) que utilizaram apenas o Cl como fonte de ânions, e sustentam, então, o conceito de que Cl e S são similares na manutenção do balanço ácido-básico.

Outro trabalho que aponta o papel do S na DCAD foi realizado por OETZEL (1991), que trabalhando com dados de 75 experimentos publicados e usando a técnica de meta-análise observou que o componente da dieta que mais influenciou a incidência de paresia da parturiente foi o S.

A questão sobre a utilização ou não do S na formulação da dieta aniônica reside na menor disponibilidade deste em relação aos íons Na^+ , K^+ e Cl^- . HORST et al. (1997) colocam que a eficiência de absorção de SO_4^{2-} no final da gestação pode ser próxima de 20%, tornando-o menos ativo como agente acidificante. Entretanto, TAKAGI e BLOCK (1991a) e DELAQUIS e BLOCK (1995), trabalhando com carneiros e vacas, respectivamente, observaram que a absorção aparente e excreção urinária de S aumentaram quando a concentração de S na dieta aumentou. O S também é reciclado em grande quantidade por ruminantes via saliva ou diretamente através da parede ruminal (KANDYLIS, 1983), o que dificulta saber com exatidão a quantidade de S disponível para a absorção por estes animais. TUCKER et al. (1991) colocaram que, à medida que mais trabalhos comparando o papel do Cl e S na DCAD tornarem-se disponíveis, um coeficiente para ajustar o efeito acidificante do S em relação ao Cl pode ser necessário e que este coeficiente pode ser dependente da fonte de S da dieta.

A expressão mais utilizada para o cálculo da DCAD é a seguinte:

$$\text{DCAD} = \text{mEq} [(\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{Cl}^- + \text{S}^-)] / 100 \text{ g ou kg de MS.}$$

Pela expressão acima, quando a soma de cátions é maior que a soma de ânions de uma ração tem-se um valor positivo e a dieta é denominada de catiônica, enquanto que quando ocorre o inverso, tem-se um valor negativo e a dieta é denominada de aniônica.

O uso da DCAD negativa está associada ao aumento na concentração do íon H^+ e a diminuição da capacidade tampão no sangue (diminuição do íon bicarbonato) e do pH sanguíneo (BLOCK, 1994).

Embora esta fórmula seja a mais utilizada atualmente para descrever o efeito dos sais aniônicos sobre o equilíbrio ácido-básico, ela negligencia o efeito dos outros íons fortes, como Ca^{++} , Mg^{++} , P^{--} e considera que todos os elementos têm a mesma disponibilidade. GOFF (1992) sugere outras duas equações para o cálculo do BCAD envolvendo todos os íons fortes. A equação 1 considera os cátions e ânions multiplicados pela sua disponibilidade segundo o NRC (1989) e a equação 2 agrupa do lado esquerdo da equação os íons que causam paresia da parturiente e do lado direito os que previnem.

$$\text{Equação 1: mEq} [(\text{Na}^+ + \text{K}^+ + 0,38 \text{ Ca}^{++} + 0,3 \text{ Mg}^{++}) - (\text{Cl}^- + 0,6 \text{ S}^- + 0,5 \text{ P}^{--})]$$

$$\text{Equação 2: mEq} [(\text{Na}^+ + \text{K}^+ + 0,38 \text{ Ca}^{++} + 0,3 \text{ Mg}^{++} + 0,25 \text{ P}^{--}) - (\text{Cl}^- + 0,6 \text{ S}^-)]$$

Segundo o NRC (2001), a aplicação de um único coeficiente para expressar a disponibilidade dos minerais em todas as suas fontes não é um método satisfatório, sendo assim, para cada fonte mineral, deve-se aplicar um coeficiente para melhor descrever a disponibilidade mineral naquela dieta, isto complica ainda mais as fórmulas descritas por GOFF (1992).

Embora estas equações sejam mais completas, elas não têm sido utilizadas no cálculo da DCAD devido a sua maior complexidade e porque a equação que considera apenas Na, K, Cl e S tem uma acurácia relativamente boa na predição dos efeitos da DCAD sobre o equilíbrio ácido-básico. Mais trabalhos sobre o papel do Ca e P devem ser realizados antes de qualquer recomendação sobre os seus usos no cálculo da DCAD. Alguns trabalhos têm verificado que as dietas aniônicas têm melhores

resultados quando combinadas com altas concentrações de Ca (OETZEL et al. 1988; LOMBA et al. 1978) e dietas ricas em P aumentam a incidência de paresia da parturiente por inibir a produção da enzima que catalisa a produção de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (TANAKA e DeLUCA, 1973, citados por GOFF et al., 1991b).

2.3.1 Mecanismo de Ação do Uso da DCAD

O desenvolvimento da paresia da parturiente em vacas leiteiras foi, inicialmente, considerado ser resultado de uma falha na secreção dos hormônios PTH ou $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ em resposta a demanda de Ca imposta pela mineralização óssea no feto e início de lactação. Entretanto, estudos ultra-estruturais indicaram que as células da glândula paratireóide de vacas com paresia da parturiente foram capazes de responder ao aumento da demanda de Ca pela secreção do hormônio estocado e hipertrofia das organelas secretoras envolvidas com a síntese de novo hormônio (CAPEN e YOUNG, 1967, citados por ROSOL e CAPEN, 1997). HORST et al. (1978) também observaram que os níveis de PTH e $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ no plasma foram iguais ou maiores em vacas com paresia da parturiente do que em vacas sem paresia da parturiente.

Outro hormônio que pode contribuir para a falta de habilidade do aumento dos níveis de PTH em mobilizar Ca rapidamente das reservas ósseas é a calcitonina. Elevados níveis de calcitonina têm sido encontrados em vacas antes do desenvolvimento de hipocalcemia profunda por alguns pesquisadores (BLACK e CAPEN, 1973, citados por ROSOL e CAPEN, 1997), mas não por outros (MAYER et al., 1975, citados por HORST et al., 1978).

ABU DAMIR et al. (1994) não encontraram níveis detectáveis de PTHrP em amostras diárias coletadas entre sete dias antes e sete dias após o parto, aumentando as dúvidas sobre a sugestão de LAW et al. (1991), citados pelos próprios ABU DAMIR et al. (1994), de que este hormônio é um importante fator para a ocorrência da paresia da parturiente.

Uma vez que a secreção dos hormônios reguladores dos níveis de Ca tem sido mostrada ser normal em vacas com paresia da parturiente, outra possibilidade que pode explicar a ocorrência desta doença metabólica é a falta de resposta dos tecidos a estes hormônios.

Estudos em ratos (BECK e WEBSTER, 1976) e cães (BURNELL, 1984, citado por GOFF et al., 1991a) indicam que o osso e o tecido renal são refratários aos efeitos do PTH em estado alcalino, e que os efeitos estimulantes do PTH são aumentados durante a acidose metabólica.

BUSHINSKY (1996) demonstrou que a alcalose metabólica inibe a reabsorção e estimula a formação óssea através da alteração das funções das células do tecido ósseo. Neste estudo, a cultura de tecido ósseo de rato em meio alcalino diminuiu a perda de Ca do osso, impediu a liberação de β -glucuronidase pelos osteoclastos e estimulou a síntese de colágeno pelos osteoblastos.

GOFF et al. (1989), porém, encontraram um subtipo de paresia da parturiente onde a concentração de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ não aumentou em resposta a hipocalcemia. Todas as vacas que apresentaram este distúrbio tiveram recidivas após o tratamento inicial para paresia da parturiente. Devido às vacas que tiveram episódios recidivantes apresentarem o mesmo grau de hipocalcemia e níveis tão elevados ou maiores de PTH ao parto do que as vacas que se recuperaram após somente um tratamento, a falha na produção de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ pode indicar uma resistência maior dos tecidos a estimulação do PTH.

O mecanismo exato de como ânions adicionados à dieta, induzindo a acidose metabólica, previnem a paresia da parturiente permanece não resolvido. A perda de Ca no início da lactação em vacas que não apresentam paresia da parturiente é repostada com sucesso pelo aumento da absorção intestinal do Ca da dieta, aumento da reabsorção do Ca estocado no osso, aumento da reabsorção tubular do Ca filtrado nos rins ou por uma combinação destes fatores (GOFF et al., 1991a). Outro fator que pode contribuir para a prevenção da paresia da parturiente é o aumento no Ca sanguíneo da fração representada pelo Ca_i (ROSOL e CAPEN, 1997), porém alguns trabalhos não

têm encontrado aumento na relação $Ca_i:Ca_t$ (OETZEL et al., 1988; CAMPOS et al., 1998b).

O aumento na retenção de Ca em vacas alimentadas com dietas aniônicas, através do aumento da reabsorção renal de Ca não tem acontecido, pelo contrário, vários trabalhos têm encontrado hipercalcúria nestes animais (GOFF e HORST, 1998; VAGNONI e OETZEL, 1998; JOYCE et al., 1997; PHILLIPPO et al., 1994; ABU DAMIR et al., 1994; WANG e BEEDE, 1992; TAKAGI e BLOCK, 1991a).

STACY e WILSON (1970) demonstraram que a hipercalcúria que ocorre no estado de acidose metabólica em ovelhas é resultado da diminuição da reabsorção tubular de Ca pelos rins. Este resultado foi confirmado por BECK e WEBSTER (1976) em ratos. WHITING e COLE (1986), citados por GAYNOR et al. (1989) acreditam que a hipercalcúria é resultado da interferência de íons H^+ na reabsorção tubular de Ca e WHITING e DRAPER (1981) colocam também que o S pode se ligar seletivamente ao Ca livre nos túbulos renais, impedindo a reabsorção e aumentando a excreção de Ca.

FREDEEN et al. (1988a) encontraram uma excreção de Ca urinário em cabras alimentadas com dieta aniônica de 7,51% do Ca ingerido, contra uma excreção de 0,19% do Ca ingerido com a dieta catiônica.

O aumento na absorção de Ca intestinal tem mostrado resultados contraditórios. LOMBA et al. (1978); PHILLIPPO et al. (1994) e ABU DAMIR et al. (1994) encontraram um aumento na absorção de Ca intestinal em vacas alimentadas com dietas aniônicas, enquanto que (LECLERC e BLOCK, 1989; TAKAGI e BLOCK, 1991a; CAMPOS et al., 1998a) não observaram influência da DCAD sobre a absorção de Ca intestinal. Segundo BLOCK (1994), conclusões sobre o papel dos intestinos no fornecimento de Ca para o *pool* de Ca extracelular são difíceis porque o intestino é a principal via de excreção de Ca e a maioria dos trabalhos é realizada com base na absorção aparente.

Uma síndrome semelhante bioquímica e clinicamente à paresia da parturiente foi produzida experimentalmente em vacas pela administração de um potente inibidor da reabsorção óssea, um composto sintético análogo ao pirofosfato, chamado de

bisfosfonato. Vacas que receberam este composto no período pós-parto desenvolveram hipocalcemia e hipofosfatemia com fraqueza muscular, incoordenação, e eventualmente decúbito esternal ou lateral (YARRINGTON et al., 1976, citados por ROSOL e CAPEN, 1997). Estes estudos sugerem um importante papel do esqueleto na manutenção da homeostase do Ca em vacas leiteiras no momento do parto.

BECK e WEBSTER (1976) demonstraram que a acidose metabólica potencializa a ação do PTH em ratos tireoparatiroidectomizados através do aumento das concentrações de Ca total e iônico no sangue. Estes autores também comprovaram que a acidose metabólica aumenta a reabsorção óssea através do aumento nas concentrações de Ca total e iônico em ratos tireoparatiroidectomizados, onde também os rins e o intestino foram retirados.

VAGG e PAYNE (1970) demonstraram que o *pool* de Ca presente no fluido que circunda as células ósseas pode ser aumentado em 5 a 6 g pelo fornecimento de cloreto de amônio. Pela ação do PTH, este Ca prontamente trocável pode ser transferido para o *pool* extracelular. Isto demonstra que o osso é capaz de liberar mais Ca em acidose metabólica.

FREDEEN et al. (1988b), não encontraram aumento no *pool* de Ca trocável em cabras, mas observaram um aumento no fluxo de Ca através deste *pool* de Ca. Acidose metabólica subclínica aumentou a absorção de Ca intestinal, a reabsorção óssea e a excreção de Ca urinário. Estes autores afirmam que o fluxo de Ca através do *pool* de Ca trocável é mais importante do que o tamanho deste *pool*. TAKAGI e BLOCK (1991c) confirmaram os resultados encontrados por FREDEEN et al. (1988b).

A adição de Cl ou SO_4^{2-} em dietas pré-parto aumenta a resposta dos tecidos ao PTH (GAYNOR et al., 1989). Esta conclusão foi baseada na observação de que a adição de ânions na dieta aumenta a reabsorção óssea e a síntese de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ em vacas. O aumento da reabsorção óssea, baseado no aumento na concentração de hidroxiprolina no plasma, tem sido encontrado também por outros autores (BLOCK, 1984; GOFF et al., 1991a).

GOFF et al. (1991a) observaram que a redução na DCAD aumenta a produção de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ por unidade de PTH, e JOYCE et al. (1997) colocam que a resposta

com aumento de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ para cada unidade de declínio do Ca no soro é maior em vacas alimentadas com sais aniônicos, demonstrando que a resposta do tecido renal ao PTH é aumentada em acidose metabólica.

PHILLIPPO et al. (1994) não encontraram diferença na concentração de PTH entre dietas ácidas e alcalinas no período anterior ao parto, mas encontraram um aumento na concentração de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ neste mesmo período com dietas ácidas. Estes autores sugerem que dietas ácidas podem afetar diretamente a atividade da enzima 1α -hidroxilase ou afetar a sua resposta durante o final da prenhez. GAYNOR et al. (1989) registraram maiores concentrações de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ em dietas ácidas somente três dias antes do parto, GOFF et al. (1991a) não encontraram diferença na concentração deste hormônio antes do parto entre dietas aniônicas e catiônicas e JOYCE et al. (1997) observaram que a concentração de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ foi menor no grupo aniônico dois dias antes e no parto, o que segundo estes autores é consistente com a resposta sistêmica esperada com a diminuição na concentração de Ca iônico neste período.

ABU DAMIR et al. (1994) mostraram a primeira evidência histológica em vacas de que dietas ácidas mobilizam Ca do esqueleto. Estes autores também mostraram que dietas ácidas aumentam a habilidade das vacas em mobilizar Ca no final da prenhez e observaram que a taxa de mobilização óssea aumentou 13% catorze dias antes do parto e 28% no momento do parto em vacas com dietas ácidas. TAKAGI e BLOCK (1991b) também encontraram aumento na quantidade de Ca mobilizado e na taxa de mobilização óssea com diminuição da DCAD.

Estes dados sugerem que a causa da paresia da parturiente é uma falta de habilidade dos tecidos em responder adequadamente ao PTH, o qual leva a uma pobre produção do segundo hormônio regulador do Ca, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, e reduz a drenagem de Ca estocado no osso. A alcalose metabólica de alguma forma modifica a integridade dos receptores do PTH nos tecidos alvos. Dietas aniônicas aumentam a resposta dos tecidos ao PTH, que controla a 1α -hidroxilase renal e a reabsorção óssea, permitindo que a vaca se adapte com sucesso à demanda de Ca no início da lactação (HORST et al., 1994).

2.3.2 Método de Formulação da Dieta Aniônica

Vários sais podem ser utilizados para formular as dietas aniônicas, como os sulfatos de alumínio ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$), cálcio (CaSO_4), magnésio (MgSO_4) e amônio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) e os cloretos de cálcio (CaCl_2), magnésio (MgCl_2) e amônio (NH_4Cl). O princípio dos sais aniônicos é que o ânion sempre deverá ter uma disponibilidade superior à do cátion. Assim, para absorver o ânion em excesso, este deverá ser trocado por um íon bicarbonato (HCO_3^-) para que a neutralidade elétrica seja mantida, alterando o equilíbrio ácido-básico.

Os sais aniônicos não são palatáveis, devendo ser fornecidos misturados ao concentrado ou, preferencialmente, na forma de dieta total misturada. OETZEL e BARMORE (1993), encontraram uma redução de 48% no consumo de 2,27 kg de concentrado contendo 2,32 Eq/dia de sais aniônicos. O fornecimento dos sais aniônicos em dietas totais misturadas tem mostrado nenhum efeito (BLOCK, 1984; OETZEL et al., 1988) ou diminuição da ingestão de MS (GAYNOR et al., 1989; TUCKER et al., 1992; VAGNONI e OETZEL, 1998; JOYCE et al., 1997). Porém, é o método que permite a maior ingestão de sal aniônico e que apresenta o menor risco de intoxicação (OETZEL et al., 1988).

A redução na ingestão de MS está relacionada, não somente a falta de palatabilidade, mas também a acidose metabólica causada pelo uso dos sais aniônicos (GOFF e HORST, 1997a; TUCKER et al., 1992).

OETZEL et al. (1991) observaram que nenhum dos seis sais aniônicos estudados (cloretos e sulfatos de Mg, Ca e NH_4) apresentou clara superioridade em afetar o equilíbrio ácido-básico ou o balanço de Ca e sugeriram que a escolha do sal aniônico deve ser baseada na disponibilidade comercial, preço e possível efeito tóxico devido ao excesso de nitrogênio não protéico, SO_4 ou Mg. OETZEL e BARMORE (1993) concluíram que o MgSO_4 é o sal aniônico mais palatável.

OETZEL (1991), citado por OETZEL e BARMORE (1993), recomenda que o valor da DCAD deve ser diminuído para ≤ 0 mEq/kg de MS, para uma prevenção mais efetiva da paresia da parturiente. BLOCK (1994), coloca que o valor mínimo

necessário para a DCAD é de -75 mEq/kg de MS. Já SANCHEZ e BLAUWIEKEL (1999); DAVIDSON et al. (1995) e MOORE et al. (2000) recomendam que o valor da DCAD deve ficar entre -10 e -15 mEq/100 g de MS.

SANCHEZ e BLAUWIEKEL (1999) e DAVIDSON et al. (1995) recomendam a seguinte seqüência para formular uma dieta aniônica:

1. Analisar todos os alimentos para os macrominerais;
2. Considerando a formulação da dieta basal, se o valor da DACD for maior do que +20 mEq/100 g de MS, grandes quantidades de sais aniônicos serão necessárias para baixar a DCAD para os níveis recomendados e problemas com a ingestão de alimentos podem ocorrer. Neste caso, deve-se optar por alimentos com baixos teores de cátions, especialmente K;
3. Inicia-se a adição dos sais aniônicos pelo $MgSO_4$, porque é o sal mais palatável e pode fornecer os requerimentos de Mg. A quantidade deste sal deve ser suficiente para obter 0,4% de Mg na MS;
4. A seguir, deve-se fornecer fontes de S ($CaSO_4$ ou $(NH_4)_2SO_4$) até que a concentração de S atinja 0,4% da MS;
5. Adicionar fontes de Cl (NH_4Cl , $CaCl_2$ ou $MgCl_2$) até obter o valor da DCAD de -10 a -15 mEq/100 g de MS;
6. Cuidar com o nitrogênio não protéico (NNP) e a proteína degradável. Reduzir o uso de sais de amônio se o NNP for maior do que 0,5% ou a proteína degradável for maior do que 70% do total de proteína bruta (PB);
7. Adicionar Ca para obter uma ingestão de 150 a 180 g Ca/dia (1,5 a 1,8% da MS);
8. Manter uma ingestão de P de 40 a 50 g/dia.

2.3.3 Monitoramento do Uso de Sais Aniônicos

O uso da dieta aniônica requer avaliações periódicas de todos os alimentos que compõem a dieta das vacas secas, devido principalmente a grande variação dos alimentos volumosos nos seus teores de K. Os constantes ajustes da dieta têm a

finalidade de manter a DCAD entre -100 e -150 mEq/kg de MS e são necessários para maior efetividade das dietas aniônicas na prevenção da paresia da parturiente.

A determinação da concentração dos minerais nos alimentos requer uma adequada amostragem de material, periodicidade de amostragem (dependente do tipo de alimento) e apoio laboratorial. Além do trabalho despendido com a colheita e envio do material e também para a reformulação da dieta, o custo para a realização das análises torna este processo muito oneroso e a sua não realização compromete os resultados da dieta aniônica.

Uma forma de diminuir a quantidade de análises de alimentos necessárias para manter um programa de alimentação de vacas secas com dieta aniônica é avaliar o pH urinário dessas vacas. O pH urinário é um método fácil e barato de avaliar o efeito dos sais aniônicos sobre o equilíbrio ácido-básico dos animais (DAVIDSON et al., 1995; JARDON, 1995).

As vacas leiteiras em regime alimentar normal tem um pH urinário alto, maior do que oito (JARDON, 1995). A adição de sais aniônicos está associada com a diminuição do pH urinário (MOORE et al., 2000).

A adição de sais aniônicos causa uma acidose metabólica subaguda nos animais que é compensada por mecanismos renais e respiratórios (JOYCE et al., 1997). VAGNONI e OETZEL (1998) encontraram uma correlação negativa e alta ($r^2 = 0,95$) entre pH urinário e acidez líquida excretada em vacas alimentadas com sais aniônicos. Isto demonstra que o rim é a principal via de excreção da acidez provocada pelo uso dos sais aniônicos.

Segundo GOFF e HORST (1997a) o pH da urina é mais estável e a análise é mais barata do que o pH sangüíneo, além de ser mais sensível porque foi capaz de distinguir entre dietas contendo 2,1% K daquelas com 3,1% K, o que não ocorreu com o pH sangüíneo. MOORE et al. (2000) também observaram uma diminuição no pH urinário com diminuição da DCAD, mas o pH plasmático não foi afetado.

DAVIDSON et al. (1995) recomendam manter o pH urinário entre 5,5 e 6,5 para que a dieta aniônica tenha o efeito desejado, enquanto que JARDON (1995) considera estes valores apenas para as vacas da raça Jersey, sendo que para as demais

raças o pH urinário deve ser mantido entre 6 e 7, e MOORE et al. (2000) recomendam um pH urinário de 6,5.

Valores altos de pH da urina não significam necessariamente que as vacas apresentam maior risco de paresia da parturiente, mas quando se estabelece um programa de alimentação com dieta aniônica a diminuição do pH da urina é um resultado esperado e a não redução do pH da urina nestes casos pode indicar problemas na formulação ou no consumo da dieta. Valores abaixo desta faixa representam uma acidificação excessiva e devem ser evitados através da diminuição da quantidade de sais aniônicos fornecida. Não se conhece ainda, se a acidificação excessiva impede a prevenção da paresia da parturiente, mas sais aniônicos não são palatáveis e a redução na ingestão de MS ingerida é um problema que pode ocorrer, além do gasto desnecessário com o excesso dos sais aniônicos (JARDON, 1995).

O efeito da DCAD sobre o pH urinário demonstra que o pH da urina é um método efetivo para controle da eficácia dos sais aniônicos.

2.3.4 Efeito da Manipulação do Equilíbrio Ácido-Básico sobre a Incidência de Paresia da Parturiente

DISHINGTON (1975) observou que 12 de 14 vacas suplementadas com uma mistura de 40 g de carbonato de sódio (NaCO_3) e 40 g de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) (+3875 mEq/dia), durante quatro semanas pré-parto e uma pós-parto, tiveram paresia da parturiente, enquanto que 12 de 13 vacas suplementadas com sulfatos e cloretos permaneceram saudáveis. Das treze vacas, seis foram suplementadas com uma mistura de 117 mL de HCl, 90 mL de H_2SO_4 e 100 g de carbonato de cálcio (CaCO_3) (DCAD de -1340 mEq/dia), o único grupo suplementado que apresentou uma vaca com paresia da parturiente, uma vaca com uma mistura de 33 g CaCl_2 , 115 g NH_4HSO_4 e CaCO_3 (DCAD de -385 mEq/dia), e as outras seis vacas com 33 g CaCl_2 , 130 g $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ e 80 g MgSO_4 (DCAD de -255 mEq/dia). Os ácidos e sais aniônicos foram misturados inicialmente em água, corrigidos para um pH de 3,6 a 3,8 com CaCO_3 e depois adicionados a seis kg de feno.

BLOCK (1984) trabalhou com os mesmos sais aniônicos de DISHINGTON (1975), na concentração de 0,23% CaCl_2 , 0,86% $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ e 0,74% MgSO_4 , fornecidos como dieta total misturada. A dieta foi composta basicamente por silagem de milho e feno de alfafa, forneceu 85,5 e 92,5 g/dia de Ca para as dietas catiônica e aniônica, respectivamente, e teve início 45 dias antes da data prevista para o parto. Foram utilizadas 20 vacas, sendo 12 da raça Holandesa e oito da raça Ayrshire, com no mínimo três registros de produção de leite em lactações prévias e com pelo menos um acima de 7.500 kg. Este trabalho foi desenvolvido num período de dois anos. No primeiro ano, as vacas foram distribuídas em blocos, de acordo com a data do parto, raça e produção de leite em lactação prévia, em uma das duas dietas, aniônica ou catiônica. No segundo ano as vacas receberam a dieta contrária a do primeiro ano. A incidência de paresia da parturiente reduziu de 47,4% (5 de 10 vacas no primeiro ano e 4 de 9 no segundo ano) para 0% com diminuição da DCAD de +330,5 para -128,5 mEq/kg de MS. Somente as vacas da raça Holandesa tiveram paresia da parturiente.

OETZEL et al. (1988) trabalharam com quatro dietas em um delineamento fatorial 2x2, sendo com e sem sais aniônicos, e com dois níveis de Ca. A dieta com sal aniônico foi suplementada com uma mistura de 100 g de NH_4Cl e 100 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. As dietas com baixos e altos níveis de Ca forneceram 53 g (0,6% Ca) e 105 g de Ca/dia (1,2% Ca), respectivamente. A dieta foi fornecida por um período de 21 dias antes do parto. A incidência de paresia da parturiente reduziu de 17 (4 de 24 vacas) para 4% (1 de 24 vacas) quando a DCAD da dieta diminuiu de +189 para -75 mEq / kg de MS com a adição de sais de amônio, mas sem diferença estatística. Estes autores também concluíram que a ingestão de Ca (53g/dia ou 105g/dia) não afetou a incidência de paresia da parturiente e nem a de hipocalcemia subclínica. O efeito dos sais aniônicos sobre a ocorrência de hipocalcemia subclínica ($\text{Ca}_i < 4,0 \text{ mg/dL}$) foi dependente dos níveis de Ca. Quando os níveis de Ca foram baixos não houve efeito dos sais aniônicos e quando os níveis de Ca foram altos houve diminuição, em 10 vezes, no risco da ocorrência de hipocalcemia subclínica. Mesmo utilizando um período mais curto neste experimento (21 dias) em relação ao trabalho de BLOCK (1984) (45 dias), o uso da dieta aniônica foi efetivo na redução da incidência de

paresia da parturiente, embora oito vacas tiveram que ser substituídas neste experimento porque pariram antes da data prevista e receberam a dieta por menos do que 11 dias.

Outro trabalho que buscou identificar os efeitos de diferentes níveis de Ca na dieta sobre a incidência de paresia da parturiente, foi realizado por GOFF e HORST (1997a), que também estudaram os efeitos da concentração de K e Na. Foram utilizadas vacas da raça Jersey de quarta ou mais lactações em um arranjo fatorial incompleto 2x4, com dois níveis de Ca (0,5 ou 1,5%) e quatro concentrações de cátions (1,1, 2,1, e 3,1% de K ou 1,3% de Na). O Na foi testado somente na concentração maior de Ca. As dietas com baixos ou altos níveis de Ca forneceram 36 g de Ca e 48 g de P ou 109 g de Ca e 47 g de P por dia, respectivamente. As vacas iniciaram a dieta experimental 3 semanas antes da data do parto. As dietas com 0,5% de Ca tiveram DCAD de -98, +222 e +408, para 1,1, 2,1 e 3,1% de K e as dietas com 1,5% de Ca tiveram DCAD de -54, +202, +461 e +436, para 1,1, 2,1 e 3,1% de K e 1,3% de Na. Não houve efeito significativo da concentração de Ca sobre a incidência de paresia da parturiente, sendo que 12 das 31 vacas alimentadas com baixos níveis de Ca e 11 das 31 vacas alimentadas com altos níveis de Ca desenvolveram paresia da parturiente. A adição de bicarbonato de potássio (KHCO_3) aumentou significativamente a incidência de paresia da parturiente ($P < 0,001$), onde 2 das 20 vacas alimentadas com a dieta com 1,1% de K, contra 10 das 20 vacas com 2,1% de K e 11 das 23 vacas com 3,1% de K apresentaram paresia da parturiente, porém a incidência entre as dietas com 2,1 e 3,1% de K foi similar. A incidência de paresia da parturiente em dietas com 3,1% de K foi de 3 das 13 vacas para o grupo com alta concentração de Ca e 8 das 10 vacas para o grupo com baixa concentração de Ca, mostrando um efeito significativo do nível de Ca ($P < 0,001$) neste nível de K. O nível de Ca também influenciou o número de tratamentos necessários para a recuperação das vacas com paresia da parturiente (um indicador da severidade da doença), sendo que o número de tratamentos foi maior ($P < 0,001$) para as vacas alimentadas com baixos níveis de Ca. O uso de altas concentrações de Na e Ca aumentaram significativamente

a ocorrência de paresia da parturiente, sendo que a doença ocorreu em 5 das 8 vacas alimentadas com 1,3% de Na contra 2 das 10 vacas alimentadas com 1,1% de K.

GOFF et al. (1991a) utilizando 47 vacas da raça Jersey, de terceira ou mais lactações, recebendo dieta total misturada baseada em silagem de alfafa e com 1,7% de Ca na MS, e fornecidas por seis semanas antes do parto, estudaram o efeito de dietas altamente catiônicas ou aniônicas sobre a incidência de paresia da parturiente. As dietas aniônica e catiônica apresentaram DCAD de -228 e $+978$ mEq/kg de MS, calculado pela fórmula $(Na+K)-(Cl+S)$, e DCAD de $+794$ e $+2009$ mEq/kg de MS, calculado pela fórmula $(Ca+0,3P+Na+K)-(Cl+S)$. Estes autores encontraram que 6 das 23 vacas alimentadas com dieta catiônica desenvolveram paresia da parturiente, enquanto que somente 1 das 24 vacas alimentadas com dieta aniônica desenvolveu paresia da parturiente, uma redução significativa ($P<0,025$). Estes autores também encontraram uma maior incidência de paresia da parturiente nos meses de inverno, mas como a análise dos alimentos não mostrou diferença entre os meses de inverno e verão, nenhuma explicação foi encontrada.

GAYNOR et al. (1989) trabalharam com 18 vacas da raça Jersey, com três ou mais gestações, e com três dietas baseadas em silagem de alfafa. As dietas foram fornecidas na forma de dieta total misturada, iniciando seis semanas antes da data prevista para o parto e indo até um dia após o parto. As dietas tiveram DCAD de $+22$, $+59,9$ e $+125,8$ mEq/100g de MS, calculado pela fórmula $Na+K-Cl$, 1,2% de Ca e relação Ca:P de 4:1. A dieta aniônica foi obtida pela suplementação de 1,18, 0,54 e 0,46% de $MgCl_2$, NH_4Cl e $CaCl_2$, respectivamente, e a dieta mais catiônica pela suplementação de 2,62% de $NaHCO_3$. Estes autores observaram que nenhuma das cinco vacas alimentadas com a dieta mais aniônica teve sinais de paresia da parturiente, enquanto que 2 das 6 vacas alimentadas com a dieta intermediária e 1 das 6 vacas alimentadas com a dieta catiônica exibiram sinais de paresia da parturiente.

TUCKER et al. (1992) não encontraram diferença na incidência de paresia da parturiente entre a dieta aniônica e a catiônica, com DCAD de -3 e $+9$ mEq/100g de MS, respectivamente. As dietas foram baseadas em silagem de sorgo, feno de alfafa e concentrado e fornecidas na forma de dieta total misturada durante 3 semanas. As

dietas continham 1,6% de Ca, obtido pela suplementação de calcário, na dieta catiônica, ou CaCl_2 , na dose de 3 Eq/dia, para a dieta aniônica. Nenhuma das 50 novilhas utilizadas no experimento apresentaram sinais de paresia da parturiente, enquanto que 4 das 35 vacas primíparas ou múltíparas alimentadas com dieta aniônica e 5 das 35 vacas alimentadas com dieta catiônica apresentaram sinais de paresia da parturiente.

MOORE et al. (2000) também não observaram casos de paresia da parturiente em novilhas. Foram utilizados 62 animais (27 vacas e 35 novilhas) da raça Holandesa, divididos em três grupos (grupo 1 ou controle: DCAD de +15; grupo 2: DCAD 0 e grupo 3: DCAD -15 mEq/100 g de MS), iniciando 24 dias antes do parto. As dietas apresentaram concentrações de 0,44, 0,97 e 1,5% de Ca na MS, para os grupos 1, 2 e 3, respectivamente. Estes autores encontraram uma tendência ($P < 0,1$) para diferenças na incidência de paresia da parturiente apenas entre os grupos de vacas, sendo que todos os casos (3 das 9 vacas) ocorreram no grupo 2.

JOYCE et al. (1997), assim como TUCKER et al. (1991) e MOORE et al. (2000), também não encontraram diferença na incidência de paresia da parturiente entre dietas aniônicas e catiônicas. Estes autores trabalharam com 45 vacas múltíparas da raça Holandesa divididas em grupos para receber uma das três dietas. A dieta 1 era baseada em feno de gramínea e a dieta 2 em feno de alfafa, e ambas as dietas não continham sais aniônicos. A dieta 3 era baseada em feno de alfafa suplementada com 5 Eq/dia de uma mistura de CaSO_4 , NH_4Cl e MgSO_4 . As dietas tinham DCAD de +30, +35 e -7 mEq/100 g de MS, para os grupos 1, 2 e 3, respectivamente. Três das 15 vacas, nos grupos 1 e 2, e 2 das 15 vacas, no grupo 3, tiveram paresia da parturiente.

No Brasil, os trabalhos de CAMPOS et al. (1998c), SETTI et al. (1998) e SETTI et al. (2001c) também não encontraram efeito da dieta aniônica sobre a incidência de paresia da parturiente.

CAMPOS et al. (1998c) utilizaram 20 vacas múltíparas e 20 primíparas, divididas em duas dietas, sendo uma catiônica, com DCAD de +186 mEq/kg de MS e 0,5% de Ca, e outra aniônica com DCAD de -75 mEq/kg de MS e 1,3% de Ca, na

forma de ração completa, por 25 ± 10 dias. A incidência foi de nenhum caso para a dieta catiônica e 1 em 20 vacas com a dieta aniônica.

SETTI et al. (1998) utilizaram 20 vacas da raça Holandesa de segunda e terceira lactação, com produção média de 6.000 kg de leite por lactação, divididas em dois grupos, sendo dietas com e sem sal aniônico. As dietas foram baseadas em silagem de milho, capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. Napier) e concentrado aniônico ou catiônico, e foram fornecidas por 21 dias antes do parto. As dietas apresentaram DCAD de +90 e +180 mEq/kg de MS e forneceram 85 g de Ca/dia e 72 g de Ca/dia, para o grupo com concentrado aniônico comercial e para o grupo com concentrado catiônico, respectivamente. Nenhuma vaca nos dois grupos apresentou paresia da parturiente.

SETTI et al. (2001c) trabalharam com 20 vacas da raça Holandesa, entre segunda e quarta lactação, durante 21 dias antes da data prevista para o parto. As dietas foram oferecidas na forma de dieta total misturada e a dieta aniônica (DCAD de $-50,8$ mEq/kg de MS) foi obtida pela adição de 300 g de uma mistura de NH_4Cl , CaSO_4 e MgSO_4 à dieta catiônica (DCAD de $+146,8$ mEq/kg de MS). A dieta catiônica forneceu 82 g de Ca/dia e a dieta aniônica 122 g de Ca/dia. Um caso em 10 vacas foi observado com a dieta catiônica, enquanto que nenhum caso foi observado com a dieta aniônica.

Diferente dos trabalhos anteriores, GOFF e HORST (1998), no experimento 2, utilizaram ácido ao invés de sal para fornecer os ânions. Eles trabalharam com 20 vacas da raça Jersey, entrando na quarta ou mais lactações, divididas em dois grupos, sendo um grupo controle e outro que recebeu 1,5 Eq de HCl por dia. As dietas foram baseadas em silagem de milho e feno de alfafa, com 0,38% de Ca e iniciaram três semanas antes do parto. Estes autores reduziram a incidência de paresia da parturiente ($P < 0,01$) de 63% (7 das 11 vacas) para 11% (1 das 9 vacas). Embora o uso de ácidos seja perigoso de se manipular em fazendas, foi concluído que o HCl é uma excelente fonte de ânions Cl^- e que não apresenta os problemas de palatabilidade dos sais aniônicos.

2.3.5 Efeito da Manipulação do Equilíbrio Ácido-Básico sobre os Níveis de Cálcio Sangüíneo

BLOCK (1984) trabalhou com duas dietas, sendo uma aniônica e outra catiônica, na forma de dietas totais misturadas e fornecidas durante 45 dias antes da data prevista para o parto. As dietas forneceram 85,5 e 92,5 g de Ca por dia para as dietas catiônica e aniônica, respectivamente. Foram utilizadas 20 vacas, sendo 12 da raça Holandesa e 8 da raça Ayrshire, com no mínimo três registros de produção de leite em lactações prévias e com pelo menos um acima de 7.500 kg. Este trabalho foi desenvolvido num período de dois anos. No primeiro ano, as vacas foram distribuídas em blocos, de acordo com a data do parto, raça e produção de leite em lactação prévia, em uma das duas dietas. No segundo ano, as vacas receberam a dieta contrária a do primeiro ano. Este autor observou que vacas alimentadas com dietas aniônicas (DCAD de $-128,5$ mEq/kg de MS) tiveram maiores níveis ($P < 0,05$) de Ca_t de três dias antes até um dia após o parto e com três dias após o parto do que as vacas com dieta catiônica (DCAD de $+330,5$ mEq/kg de MS). Das vacas alimentadas com a dieta catiônica, as que tiveram paresia da parturiente apresentaram menores níveis de Ca_t ($P < 0,05$) ao parto do que as que permaneceram saudáveis. Os valores de Ca_t para as vacas alimentadas com a dieta catiônica, para -3 , -2 , -1 , 0 , 1 , 2 e 3 dias em relação ao parto, foram $8,02$ e $8,24$, $7,75$ e $8,40$, $7,22$ e $8,43$, $4,83$ e $7,75$, $5,69$ e $8,52$, $6,79$ e $8,75$, e $7,43$ e $8,95$ mg/dL, para vacas com e sem paresia da parturiente, respectivamente.

OETZEL et al. (1988) trabalharam com quatro dietas em um delineamento fatorial 2×2 , sendo com e sem sais aniônicos, e com dois níveis de cálcio. A dieta com sal aniônico foi suplementada com uma mistura de 100 g de NH_4Cl e 100 g de $(NH_4)_2SO_4$. As dietas com baixos e altos níveis de Ca forneceram 53 g (0,6% Ca) e 105 g de Ca/dia (1,2% Ca), respectivamente. A dieta foi fornecida por um período de 21 dias antes do parto. Eles encontraram maior concentração de Ca_i ($P < 0,01$) no dia do parto ($4,05 \times 3,56$ mg/dL), e de Ca_t ($P < 0,05$) um dia antes ($9,85 \times 9,27$ mg/dL) e no dia do parto ($8,40 \times 7,40$ mg/dL) com o uso de sais de amônio (DCAD de -75 mEq/kg de MS) em relação a dieta sem sais aniônicos (DCAD de $+180$ mEq/kg de MS). A

ingestão de Ca só afetou a concentração de Ca_i um dia antes do parto, o qual foi maior ($P < 0,05$) em vacas alimentadas com altos níveis de Ca na dieta. A relação $Ca_i:Ca_t$ não foi afetada ($P > 0,05$) pela adição de sais de amônio.

GAYNOR et al. (1989) trabalharam com 18 vacas da raça Jersey, com três ou mais gestações, e com três dietas baseadas em silagem de alfafa. As dietas foram fornecidas na forma de dieta total misturada, iniciando seis semanas antes da data prevista para o parto e indo até um dia após o parto. As dietas tiveram DCAD de +22, +59,9 e +125,8 mEq/100g de MS, calculada pela fórmula $Na+K-Cl$, 1,2% de Ca e relação Ca:P de 4:1. A dieta aniônica foi obtida pela suplementação de 1,18, 0,54 e 0,46% de $MgCl_2$, NH_4Cl e $CaCl_2$, respectivamente, e a dieta mais catiônica pela suplementação de 2,62% de $NaHCO_3$. Estes autores encontraram um declínio ($P < 0,05$) na concentração de Ca_t similar em todos os grupos um dia antes do parto. Eles não encontraram diferença na concentração de Ca_t ($P > 0,10$) dentro de 36 horas após o parto entre os três grupos, com concentrações de $7,01 \pm 0,62$, $6,49 \pm 0,62$ e $6,43 \pm 0,57$ mg/dL para DCAD de +22, +59,9 e +125,8 mEq/100g de MS, respectivamente. Porém, colocaram que todos os animais do grupo mais aniônico mantiveram a concentração de Ca_t no plasma acima de 6,2 mg/dL, o que não ocorreu com os outros grupos.

GOFF et al. (1991a) utilizaram 47 vacas da raça Jersey, de terceira ou mais lactações, recebendo dieta total misturada baseada em silagem de alfafa e com 1,7% de Ca na MS, e fornecidas por seis semanas antes do parto. As dietas aniônica e catiônica apresentaram, respectivamente, DCAD de -228 e +978 mEq/kg de MS, calculada pela fórmula $(Na+K)-(Cl+S)$, e DCAD de +794 e +2009 mEq/kg de MS, calculada pela fórmula $(Ca+0,3P+Na+K)-(Cl+S)$. Devido a maior incidência de paresia da parturiente ter ocorrido no inverno, os dados dos animais que pariram entre os meses de novembro e janeiro também foram analisados separadamente. Utilizando todas as vacas, estes autores encontraram a concentração mais baixa de Ca_t um dia após a parição em ambos os grupos, catiônico e aniônico, sendo que o grupo catiônico teve a menor concentração ($P < 0,05$) ($5,98 \times 6,99$ mg/dL). O grupo catiônico também teve a menor concentração de Ca_t ($P < 0,05$) no dia do parto ($6,58 \times 7,63$ mg/dL) e dois dias depois

(7,03 x 8,31 mg/dL) em relação ao grupo aniônico. Utilizando apenas as vacas paridas entre novembro e janeiro, observou-se que a concentração de Ca_i no plasma diminuiu ($P < 0,001$) ao parto nas vacas alimentadas com a dieta catiônica, mas não com a dieta aniônica. A concentração de Ca_i no plasma não retornou a níveis pré-parto antes de três dias de lactação para o grupo catiônico. Os valores para Ca_i nos dias 0, 1 e 2 em relação ao parto, foram 8,44 e 6,40, 8,42 e 6,56, e 9,42 e 6,85 mg/dL, respectivamente, para os grupos aniônico e catiônico.

TUCKER et al. (1992) trabalharam com 50 novilhas e 70 vacas primíparas ou multíparas, divididas em duas dietas, sendo uma aniônica e outra catiônica, com DCAD de -3 e $+9$ mEq/100g de MS, respectivamente. As dietas foram baseadas em silagem de sorgo, feno de alfafa e concentrado e fornecidas na forma de dieta total misturada durante 3 semanas. As dietas continham 1,6% de Ca, obtido pela suplementação de calcário, na dieta catiônica, ou $CaCl_2$, na dose de 3 Eq/dia, para a dieta aniônica. As coletas de sangue para análise do Ca_i foram realizadas semanalmente, de três semanas antes até três semanas após o parto. Estes autores encontraram maior concentração de Ca_i ($P < 0,05$) para vacas alimentadas com dieta aniônica em comparação a dieta catiônica (4,08 x 3,36 mEq/L, respectivamente) somente ao parto, mas não entre novilhas para qualquer período estudado. Novilhas apresentaram maiores concentrações de Ca_i ($P < 0,05$) do que vacas nos períodos de três semanas antes, no parto e uma semana depois do parto, com valores de 4,85 e 4,38, 4,40 e 3,72, e 4,56 e 4,04 mEq/L, para novilhas e vacas, respectivamente.

Outro trabalho onde se pesquisou o efeito das dietas aniônicas sobre os níveis de Ca em novilhas foi realizado por MOORE et al. (2000). Eles utilizaram 62 animais (27 vacas e 35 novilhas) da raça Holandesa, divididos em três grupos (grupo 1 ou controle: DCAD de $+15$; grupo 2: DCAD 0 e grupo 3: DCAD -15 mEq/100 g de MS), iniciando 24 dias antes do parto. As dietas apresentaram concentrações de 0,44, 0,97 e 1,5% de Ca na MS, para os grupos 1, 2 e 3, respectivamente. A diminuição da DCAD da dieta aumentou Ca_i plasmático para vacas e novilhas uma semana antes e no parto. Concentração de Ca_i plasmático foi normal (> 4 mg/dL) para todas as novilhas ao parto. Vacas alimentadas com dieta controle tiveram menor concentração de Ca_i

plasmático ($P < 0,03$) do que as vacas alimentadas com dietas com DCAD 0 e -15 mEq/100 g de MS, e vacas com DCAD 0 tiveram menor concentração de Ca_i plasmático ($P < 0,04$) do que as com DCAD de -15 mEq/100 g de MS, ao parto. As concentrações de Ca_i plasmático ao parto (média de três amostras tomadas às 0, 12 e 24 horas depois do parto) foram 3,67, 3,85 e 4,35 mg/dL para os grupos 1, 2 e 3, respectivamente. O número de vacas com hipocalcemia ($Ca_i > 4$ mg/dL) foram 7 de 8, 4 de 8 e 0 de 5 para os grupos 1, 2 e 3, respectivamente. Vacas do grupo 3 tenderam a ter menos hipocalcemia do que as vacas do grupo 2 ($P < 0,10$, teste exato de Fisher).

JOYCE et al. (1997) trabalharam com 45 vacas multíparas da raça Holandesa divididas em grupos para receber uma das três dietas. A dieta 1 era baseada em feno de gramínea e a dieta 2 em feno de alfafa, e ambas as dietas não continham sais aniônicos. A dieta 3 era baseada em feno de alfafa suplementada com 5 Eq/dia de uma mistura de $CaSO_4$, NH_4Cl e $MgSO_4$. As dietas tinham DCAD de +30, +35 e -7 mEq/100 g de MS, para os grupos 1, 2 e 3, respectivamente. A concentração de Ca_t no soro e de Ca_i no sangue total foram maiores ($P \leq 0,10$) para o grupo 3 do que para o grupo 2 (4,31 x 3,87 mg/dL para Ca_i), no dia do parto. A relação $Ca_i: Ca_t$ foi maior para o grupo 3 ($P \leq 0,10$) três dias antes e um e dois dias depois do parto em relação ao grupo 1, e dois dias depois do parto em relação ao grupo 2. Não foi encontrada diferença na ocorrência de hipocalcemia subclínica (concentração de Ca iônico < 4 mg/dL).

CAMPOS et al. (1998b) utilizaram 20 vacas multíparas e 20 primíparas, divididas em duas dietas, sendo uma catiônica, com DCAD de +186 mEq/kg de MS e 0,5% de Ca , e outra aniônica com DCAD de -75 mEq/kg de MS e 1,3% de Ca , na forma de ração completa, por 25 ± 10 dias. As concentrações de Ca_i e Ca_t foram maiores ($P \leq 0,05$) para as vacas que receberam a dieta aniônica, cinco dias antes do parto, em relação à dieta catiônica. Em nenhum outro momento houve diferença na concentração de Ca_i e Ca_t entre as dietas. A relação $Ca_i: Ca_t$ não foi afetada pela dieta neste experimento.

SETTI et al. (1998) utilizaram 20 vacas da raça Holandesa de segunda e terceira lactação, com produção média de 6.000 kg de leite por lactação, divididas em dois

grupos, sendo dietas com e sem sal aniônico. As dietas foram baseadas em silagem de milho, capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. Napier) e concentrado aniônico ou catiônico, e foram fornecidas por 21 dias antes do parto. As dietas apresentavam DCAD de +90 e +180 mEq/kg de MS e forneciam 85 g de Ca/dia e 72 g de Ca/dia, para o grupo com concentrado aniônico comercial e para o grupo com concentrado catiônico, respectivamente. Não houve diferença na concentração de Ca_i entre as duas dietas em ambas as coletas, de 21 dias antes do parto e do dia do parto.

SETTI et al. (2001a) trabalharam com 20 vacas da raça Holandesa, entre segunda e quarta lactação, durante 21 dias antes da data prevista para o parto. As dietas foram oferecidas na forma de dieta total misturada e a dieta aniônica (DCAD de -50,8 mEq/kg de MS) foi obtida pela adição de 300 g de uma mistura de NH_4Cl , $CaSO_4$ e $MgSO_4$ à dieta catiônica (DCAD de +146,8 mEq/kg de MS). A dieta catiônica forneceu 82 g de Ca/dia e a dieta aniônica 122 g de Ca/dia. Não foram encontradas diferenças no Ca_i e Ca_e entre as dietas aniônicas e catiônicas para qualquer período estudado no pré e pós-parto.

GOFF e HORST (1998), no experimento 2, trabalharam com 20 vacas da raça Jersey, entrando na quarta ou mais lactações, divididas em dois grupos, sendo um grupo controle e outro que recebeu 1,5 Eq de HCl por dia, recebendo dieta baseada em silagem de milho e feno de alfafa, com 0,38% de Ca e iniciando três semanas antes do parto. As dietas e dias em relação ao parto foram fontes significativas de variação da concentração de Ca plasmático, mas a interação entre eles não foi significativa. A média da concentração de Ca de vacas que foram alimentadas com HCl ($7,48 \pm 0,13$ mg/dL) foi maior ($P < 0,01$) do que as vacas do grupo controle ($6,89 \pm 0,18$ mg/dL) durante o período de 3 dias antes até 3 dias depois do parto. A concentração de Ca_i 12 horas após o parto foi $5,33 \pm 0,52$ mg/dL para as vacas do grupo controle e $6,69 \pm 0,51$ mg/dL para as vacas que receberam HCl.

GOFF e HORST (1997a) estudaram os efeitos de diferentes níveis de Ca, K e Na na dieta. Foram utilizadas vacas da raça Jersey de quarta ou mais lactações em um arranjo fatorial incompleto 2x4, com dois níveis de Ca (0,5 ou 1,5%) e quatro concentrações de cátions (1,1, 2,1, e 3,1% de K ou 1,3% de Na). O Na foi testado

somente na concentração maior de Ca. As dietas com baixos ou altos níveis de Ca forneceram 36 g de Ca e 48 g de P ou 109 g de Ca e 47 g de P por dia, respectivamente. As vacas iniciaram a dieta experimental 3 semanas antes da data do parto. As dietas com 0,5% de Ca tiveram DCAD de -98, +222 e +408, para 1,1, 2,1 e 3,1% de K e as dietas com 1,5% de Ca tiveram DCAD de -54, +202, +461 e +436, para 1,1, 2,1 e 3,1% de K e 1,3% de Na. A concentração de Ca diminuiu ao parto para todas as vacas ($P < 0,001$). O nível de Ca na dieta não teve efeito significativo sobre a concentração de Ca plasmático. As vacas alimentadas com as dietas com 2,1 e 3,1% de K tiveram uma redução significativa na concentração de Ca plasmático em comparação as vacas com 1,1% de K na dieta ($P < 0,01$). Vacas alimentadas com 3,1% de K tiveram maior concentração ($P < 0,05$) de Ca plasmático ao redor do parto do que vacas alimentadas com 2,1% de K. Houve um efeito de interação ($P < 0,001$) entre Ca e K da dieta sobre a concentração de Ca plasmático. Quando a concentração de Ca e K foram maiores na dieta, a concentração de Ca plasmático foi elevada acima da concentração prevista pelo modelo baseado somente nos efeitos do K da dieta. A média da concentração de Ca plasmático, obtida ao parto e doze horas depois, de vacas alimentadas com dieta contendo 1,5% de Ca e 3,1% de K ($6,39 \pm 0,23$ mg/dL) foi maior ($P < 0,05$) do que para as vacas alimentadas com dieta contendo 0,5% de Ca e 3,1% de K ($5,22 \pm 0,39$ mg/dL) e similar à concentração das vacas alimentadas com 0,5% de Ca e 1,1% K na dieta ($6,57 \pm 0,29$ mg/dL) e com 1,5% de Ca e 1,1% K na dieta ($6,90 \pm 0,21$ mg/dL). Em relação ao Na, as vacas alimentadas com dieta com níveis altos em Ca e Na tiveram um declínio na concentração de Ca plasmático ao parto significativamente maior ($P < 0,001$) do que as vacas alimentadas com dieta com níveis alto em Ca e baixo em K. A concentração de Ca plasmático mais baixa para a dieta com níveis altos em Ca e Na ($4,78 \pm 0,44$ mg/dL) foi significativamente menor do que para vacas alimentadas com a dieta com níveis altos em Ca e baixos em Na e K ($6,81 \pm 0,27$ mg/dL).

PHILLIPPO et al. (1994) trabalharam com vacas da raça Holandesa (Friesian), de quarta à décima terceira lactação, distribuídas aleatoriamente em dois grupos, um recebendo concentrado alcalino e outro recebendo concentrado ácido. As dietas eram

baseadas em silagem de gramíneas mais 3 kg de um dos concentrados, e fornecida de 28 dias antes até três dias após o parto. A DCAD da dieta foi de +534 e +539 mEq/kg de MS, para as dietas catiônicas, e -8 e -59 mEq/kg de MS, para as dietas aniônicas, nos experimentos 1 e 2, respectivamente. Foram utilizadas 24 vacas parindo entre janeiro e abril, no experimento 1, e 15 vacas parindo entre agosto e janeiro, no experimento 2. As amostras de sangue foram colhidas duas vezes por semana entre 28 dias antes e 28 dias depois do parto e duas vezes ao dia de quatro dias antes até quatro dias depois do parto. A concentração de Ca_t foi diferente entre os tratamentos somente no dia do parto e um dia depois. Nos últimos momentos do experimento 1, os valores de Ca_t foram $2,34 \pm 0,18$ mmol/L ($n = 13$) para o grupo ácido e $2,01 \pm 0,28$ mmol/L ($n=11$) para o grupo alcalino ($P<0,05$). Todas as 13 vacas do grupo ácido tiveram concentração de Ca_t acima de 2,0 mmol/L em comparação a apenas cinco das 11 vacas alimentadas com concentrado alcalino ($P = 0,003$, teste exato de Fisher). Um dia após o parto, no experimento 2, a média da concentração de Ca_t foi de $2,28 \pm 0,36$ mmol/L ($n=8$) para o grupo ácido e $1,59 \pm 0,22$ mmol/L ($n = 7$) para o grupo alcalino ($P<0,05$). Seis de oito e uma de sete vacas, respectivamente para os grupos ácido e alcalino, tiveram concentração de Ca_t acima de 2,0 mmol/L ($P = 0,030$, teste exato de Fisher). A concentração de Ca_i foi significativamente aumentada pela dieta ácida em ambos os experimentos até dois dias após a parição. Os valores médios de Ca_i nos grupos alimentados com concentrado ácido foram entre 1,20-1,28 e 1,16-1,20 mmol/L e nos grupos com concentrado alcalino entre 1,16-1,20 e 1,10-1,16 mmol/L, para os experimentos 1 e 2, respectivamente.

ABU DAMIR et al. (1994) trabalharam com 14 vacas da raça Holandesa (Friesian), de terceira a oitava lactação, distribuídas aleatoriamente em dois grupos, um recebendo concentrado alcalino e outro recebendo concentrado ácido. As dietas eram baseadas em silagem de gramíneas mais 3 kg de um dos concentrados, e fornecidas por 28 dias antes do parto. A DCAD da dieta foi de +779 mEq/kg de MS para a dieta catiônica, e -35 mEq/kg de MS, para a dieta aniônica. No período de 28 a 2,5 dias antes do parto, não houve efeito das dietas sobre a concentração de Ca_t , mas o Ca_i foi significativamente maior ($P<0,05$) para o grupo ácido ($1,24 \pm 0,02$ mmol/L) em

relação ao grupo alcalino ($1,18 \pm 0,02$ mmol/L). A concentração de Ca_t declinou um dia antes do parto em ambas as dietas e alcançou a média mais baixa um dia após o parto, com $2,20 \pm 0,05$ mmol/L para o grupo ácido e $1,75 \pm 0,11$ mmol/L para o grupo alcalino. A concentração de Ca_i também alcançou a média mais baixa um dia após o parto com $1,10 \pm 0,03$ mmol/L para o grupo ácido e $0,86 \pm 0,05$ mmol/L para o grupo alcalino. No período de dois dias antes até o parto, as concentrações de Ca_t e Ca_i foram maiores ($P < 0,01$) para as vacas da dieta aniônica (2,44 e 1,19 mmol/L) do que para as da dieta catiônica (2,29 e 1,08 mmol/L, respectivamente). No período de 0,5 até 2,5 dias após o parto, as concentrações de Ca_t e Ca_i também foram maiores ($P < 0,01$) para as vacas da dieta aniônica (2,39 e 1,16 mmol/L) do que para as da dieta catiônica (2,01 e 0,97 mmol/L, respectivamente).

WANG e BEEDE (1992) estudaram o efeito de NH_4Cl e $(NH_4)_2SO_4$ (98 g de cada sal/dia) para oito vacas da raça Jersey vazias e secas, durante a perda de Ca imposta pela infusão de etileno diamino tetracetato dissódico (Na_2EDTA), simulando a perda de Ca do início de lactação. As dietas foram baseadas em silagem de milho e concentrado, sendo que o concentrado do grupo controle não continha sal aniônico (DCAD de +69 mEq/kg de MS) enquanto que o concentrado do grupo em tratamento continha os sais aniônicos (DCAD de -428 mEq/kg de MS). Os animais foram separados em dois grupos (blocos) de acordo com o peso corporal inicial. Foram utilizados dois períodos de 28 dias, onde, nos primeiros 14 dias, todos os animais receberam a dieta controle, e nos 14 dias restantes, uma das duas dietas. No dia 28 do experimento, foi realizada a infusão de Na_2EDTA (10% p/v) a uma taxa de 3,1 mL/min. As amostras de sangue foram coletadas imediatamente antes da infusão e a cada 30 minutos de intervalo até 14,5 h após o início da infusão. Antes da infusão de Na_2EDTA , a concentração de Ca_i foi maior ($P < 0,02$) para o grupo tratamento (4,88 mg/dL) do que para o grupo controle (4,68 mg/dL). Após o mesmo volume de Na_2EDTA infundido (quando a primeira vaca mostrou sinais de hipocalcemia), o Ca_i foi maior ($P < 0,04$) para o grupo tratamento (2,44 mg/dL) do que para o grupo controle (2,12 mg/dL). A concentração de Ca_t não foi afetada pela dieta. A relação $Ca_i:Ca_t$ foi de 0,51 para o grupo tratamento e de 0,48 para o grupo controle.

2.3.6 Efeito da Manipulação do Equilíbrio Ácido-Básico sobre o pH Urinário

GOFF et al. (1991a) utilizaram 5 vacas da raça Jersey, recebendo dieta total misturada baseada em silagem de alfafa, com DCAD de -228 e $+978$ mEq/kg de MS. Estes autores encontraram uma média de $7,2 \pm 0,3$ no valor de pH urinário para o grupo aniônico e $8,3 \pm 0,2$ para o grupo catiônico, durante a semana que antecedeu o parto.

TUCKER et al. (1992) estudaram o efeito de duas dietas, sendo uma aniônica e outra catiônica, com DCAD de -3 e $+9$ mEq/100g de MS, respectivamente, sobre o pH urinário de vacas e novilhas. O valor de pH foi transformado para concentração de H^+ na urina para análise dos dados. Estes autores encontraram maior concentração de H^+ na urina nos períodos de duas e uma semanas antes e no parto, com valores de 107 e 869, 6 e 724, e 64 e 865 nEq/L, respectivamente, para dietas catiônicas e aniônicas.

MOORE et al. (2000) utilizaram 62 animais (27 vacas e 35 novilhas) da raça Holandesa, divididos em três grupos (grupo1 ou controle: DCAD de $+15$; grupo 2: DCAD 0 e grupo3: DCAD -15 mEq/100 g de MS). Estes autores encontraram que vacas e novilhas alimentadas com DCAD 0 e -15 mEq/100 g de MS tiveram menor pH urinário ($P<0,01$) do que vacas do grupo controle durante o período pré-parto e que vacas e novilhas com DCAD -15 mEq/100 g de MS tiveram menor pH urinário ($P<0,01$) do que vacas com DCAD 0. Os valores de pH para os grupos 1, 2 e 3 foram de 7,95, 7,32 e 6,01 e 8,03, 7,37 e 6,42, respectivamente, para vacas e novilhas.

JOYCE et al. (1997) trabalharam com 45 vacas múltiparas da raça Holandesa divididas em 3 grupos para receber uma das três dietas, com DCAD de $+30$, $+35$ e -7 mEq/100 g de MS, para os grupos 1, 2 e 3, respectivamente. Durante o período pré-parto e no dia do parto, as vacas do grupo 3 tiveram menor pH urinário ($P<0,05$) do que as vacas do grupo 2. As vacas do grupo 3 também tiveram menor pH urinário ($P<0,05$) do que as vacas do grupo 1 com um e dois dias antes do parto. Os valores de pH urinário para os grupos 1, 2 e 3 foram respectivamente de 8,22, 8,40 e 7,19 para dois dias antes do parto e 8,05, 8,33 e 7,35 para o dia anterior ao parto.

CAMPOS et al. (1998b) utilizaram 20 vacas multíparas e 20 primíparas, divididas em duas dietas, sendo uma catiônica, com DCAD de +186 mEq/kg de MS, e outra aniônica, com DCAD de -75 mEq/kg de MS. O pH urinário foi menor ($P \leq 0,05$) para a dieta aniônica, de cinco dias antes até um dia após o parto. Os valores para -5, -3, -2, -1, 0 e +1 dias em relação ao parto foram 8,18 e 5,46, 8,01 e 5,52, 7,96 e 5,55, 7,87 e 5,71, 7,76 e 5,92, e 7,88 e 6,11, respectivamente para as dietas catiônicas e aniônicas.

SETTI et al. (2001b) trabalharam com 20 vacas da raça Holandesa, divididas em dois grupos, sendo um grupo com a dieta aniônica (DCAD de -50,8 mEq/kg de MS) e outro com a dieta catiônica (DCAD de +146,8 mEq/kg de MS). O pH da urina apresentou interação significativa ($P < 0,01$) entre a dieta e o tempo de colheita, onde nos períodos de três e duas semanas antes do parto, respectivamente, a dieta aniônica apresentou os menores valores (5,67 e 6,0) do que a dieta catiônica (8,06 e 7,9).

GOFF e HORST (1997a) estudaram os efeitos de dois níveis de Ca (0,5 ou 1,5%) e quatro concentrações de cátions (1,1, 2,1, e 3,1% de K ou 1,3% de Na) sobre o pH urinário. O Na foi testado somente na concentração maior de Ca. As dietas com 0,5% de Ca tiveram DCAD de -98, +222 e +408, respectivamente para 1,1, 2,1 e 3,1% de K e as dietas com 1,5% de Ca tiveram DCAD de -54, +202, +461 e +436, respectivamente para 1,1, 2,1 e 3,1% de K e 1,3% de Na. Os níveis de Ca não tiveram efeito sobre o pH urinário. As vacas alimentadas com a dieta contendo 1,1% de K tiveram menor pH urinário ($5,75 \pm 0,10$) do que as vacas com dieta contendo níveis maiores de K e vacas com 2,1% de K tiveram menor pH urinário ($7,92 \pm 0,07$) do que vacas com 3,1% de K ($8,17 \pm 0,06$). Vacas alimentadas com dieta com níveis altos de Na tiveram maior pH urinário ($P < 0,01$) antes do parto ($8,26 \pm 0,02$) do que vacas com baixos níveis de Na na dieta ($5,70 \pm 0,09$).

GOFF e HORST (1998), no experimento 1, trabalharam com oito vacas secas e vazias da raça Jersey recebendo 5 kg de MS de uma dieta baseada em silagem de milho e feno de alfafa, com 0,38% de Ca, por 10 dias antes do início do experimento. O experimento se desenvolveu num período de nove dias, onde durante os primeiros sete dias foram adicionados 2,5 Eq/dia de HCl a ração base e nos dois últimos dias

retornou-se a dieta basal. O pH de amostras de urina obtido 16 h após a adição de HCl foi menor do que o pH obtido antes do início do experimento e permaneceu menor durante os sete dias de fornecimento do HCl. Dentro de 24h após a remoção do HCl, o pH da urina aumentou e não foi diferente dos níveis pré-tratamento.

VAGNONI e OETZEL (1998) utilizaram oito vacas da raça Holandesa divididas em quatro grupos, recebendo dietas baseadas em silagens de milho e de alfafa e mais uma das quatro pré-misturas. As dietas com as pré-misturas 1, 2, 3 e 4 tiveram DCAD de +203, -51, -40 e -63 mEq/kg de MS, respectivamente. Os períodos experimentais tiveram duração de sete dias e foram intercalados por sete dias com a dieta controle. O pH da urina foi reduzido pelos sais aniônicos ($P < 0,001$). O pH da urina foi de 8,33, 6,37, 6,89 e 7,20 para as DCAD de +203, -51, -40 e -63 mEq/kg de MS, respectivamente. A excreção de HCO_3^- foi reduzida e a excreção de NH_4^+ e a acidez titulável foram aumentadas ($P < 0,001$) pelos sais aniônicos, conseqüentemente, a acidez líquida excretada também foi aumentada ($P < 0,001$). Em dietas contendo sais aniônicos, os autores encontraram uma correlação negativa forte ($r^2 = 0,95$; $P < 0,001$) entre pH urinário e acidez líquida excretada.

WANG e BEEDE (1992) estudaram o efeito de cloreto e sulfato de amônio (98 g de cada sal/dia) para oito vacas da raça Jersey vazias e secas, durante a perda de Ca imposta pela infusão de Na_2EDTA , simulando a perda de Ca do início de lactação. A dieta catiônica tinha DCAD de +69 mEq/kg de MS, enquanto que a dieta aniônica tinha DCAD de -428 mEq/kg de MS. Foram utilizados dois períodos de 28 dias, onde nos primeiros 14 dias todos os animais receberam uma dieta controle e nos 14 dias restantes uma das duas dietas. Amostras de urina foram colhidas nos dias 25, 26 e 27 de cada período e o pH foi determinado imediatamente. O pH da urina foi menor ($P < 0,01$) para o grupo tratamento (5,93) do que para o grupo controle (7,88). A acidez titulável, concentração de amônia e acidez líquida excretada foi maior ($P < 0,01$) para o grupo tratamento do que para o grupo controle.

FREDEEN et al. (1988a) trabalharam com oito cabras durante o final da gestação ou início de lactação e com três dietas, sendo uma catiônica, uma controle e outra aniônica, com DCAD de +90, +45,8 e +0,7 mEq/100g de MS, respectivamente,

calculada pela fórmula $\text{Na}+\text{K}-\text{Cl}$. O período de tratamento consistiu de 10 dias de adaptação da dieta seguidos por cinco dias de colheita de amostras em gaiolas metabólicas. A dieta controle (oito cabras) foi seguida pela dieta aniônica ou catiônica (quatro cabras cada) durante a prenhez e lactação. A concentração de H^+ na urina foi elevada no grupo aniônico e diminuída no grupo catiônico durante a prenhez e lactação ($P<0,01$). Os valores de pH urinário foram de 7,59 e 8,01 para o grupo controle, 8,11 e 8,28 para o grupo catiônico e 5,59 e 5,46 para o grupo aniônico, durante a prenhez e lactação, respectivamente. A acidez titulável foi significativamente aumentada ($P<0,01$) pelo grupo aniônico durante ambos os períodos. Excreção ácida e excreção de amônia foram elevadas ($P<0,01$ e $P<0,05$, respectivamente) pelo grupo aniônico em relação ao grupo controle.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido na Chácara Vitória, localizada no município de Palmeira, Paraná, no período de julho a novembro de 2001.

Para a análise da incidência de paresia da parturiente foram utilizadas 35 vacas da raça Holandesa com duas ou mais lactações, divididas em três grupos, sendo 15 vacas no grupo controle ou grupo 1, 11 no grupo 2 e nove no grupo 3.

Para as análises de Ca_i , Ca_t e pH urinário foram utilizadas 21 vacas da raça Holandesa com duas ou mais lactações, em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com três tratamentos e sete repetições no esquema de parcela subdividida, onde as dietas foram estudadas nas parcelas e os períodos de colheitas nas subparcelas.

A paresia da parturiente foi determinada pelos sinais clínicos da doença (dificuldade de locomoção, decúbito lateral ou esternal) e resposta positiva ao tratamento com solução a base de Ca. A hipocalcemia subclínica foi determinada pela concentração de Ca_t menor do que 7,5 mg/dL (GOFF e HORST, 1998) ou concentração de Ca_i menor do que 4,0 mg/dL (BEEDE et al., 1992, citados por SANCHEZ e BLAUWIEKEL, 1999).

A dieta dos animais consistia de uma mistura de silagem de milho e de silagem pré-secada de azevém preparada em vagão misturador e fornecida uma vez ao dia, e de um concentrado a base de milho e soja, com ou sem adição de sais aniônicos, fornecidos duas vezes ao dia. A alimentação foi fornecida para atender ou exceder os requerimentos para vacas secas do NRC (2001). Pode-se observar a composição das dietas na Tabela 1.

As vacas ficavam num piquete próximo das demais instalações da fazenda, específico para o lote de vacas secas nos últimos 30 dias de gestação. Este piquete tinha a vegetação rebaixada para evitar o consumo, e era provido de bebedouro e de uma área fechada onde se encontrava o cocho de alimentação. O cocho tinha capacidade para a alimentação de 35 animais, com sistema de canzil, o que permitia

prendê-los durante o fornecimento do concentrado. Após o fornecimento de concentrado, os canzís ficavam abertos para permitir o livre acesso dos animais.

Os animais foram identificados por uma fita colorida colocada no membro posterior esquerdo, sendo que a cor verde identificava os animais do grupo 1, a cor amarela do grupo 2 e a cor vermelha do grupo 3.

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO DAS DIETAS

	GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3
INGREDIENTES⁽¹⁾			
SILAGEM DE MILHO	49,30	48,86	48,66
SILAGEM PRÉ-SECADA AZEVÉM	16,43	16,29	16,22
MILHO	16,43	16,29	16,22
SOJA	16,43	16,29	16,22
CALCÁREO	1,07	0,81	0,41
ÓXIDO Mg	0,16	0	0
PREMIX ⁽²⁾	0,16	0,16	0,16
CaCl ₂ *2H ₂ O	0	0,41	1,05
MgSO ₄ *7H ₂ O	0	0,90	1,05
NUTRIENTES⁽¹⁾			
PB	16,1	16,1	16,1
EL ₁ (Mcal/kg)	1,82	1,82	1,82
FDA	21,3	21,3	21,3
FDN	38,9	38,9	38,9
Ca	0,67	0,68	0,70
P	0,33	0,33	0,33
Mg	0,32	0,31	0,32
Na	0,12	0,12	0,12
K	1,24	1,23	1,22
Cl	0,33	0,52	0,83
S	0,25	0,37	0,39
DCAD⁽³⁾	122,1	-8,82	-110,41

(1) Porcentagem da MS (exceto EL₁).

(2) Níveis por kg: Fe 17.500 mg; Cu 10.000 mg; Mn 20.000 mg; Co 252 mg; Zn 35.000 mg; I 600 mg; Se 360 mg; Ca 261 g.

(3) (Na + K) – (Cl + S) em mEq/kg de MS.

Os tratamentos diferiram entre si pela concentração de sais aniônicos no concentrado, sendo o grupo controle sem a adição de sais, o grupo 2 com a adição de 50 g de CaCl₂*2H₂O e 110 g de MgSO₄*7H₂O e o grupo 3 com 130 g de CaCl₂*2H₂O e 130 g de MgSO₄*7H₂O. A DCAD foi de +122, -8,82 e -110,4 mEq/kg de MS, para os grupos 1, 2 e 3, respectivamente.

A dieta teve início quatro semanas antes da data prevista para o parto. Os animais que pariram antes da data prevista e que ficaram por menos de catorze dias em

tratamento foram substituídos. Após o parto, os animais voltaram ao manejo normal da fazenda.

A DCAD da dieta foi calculada em $mEq (Na + K) - (Cl + S) / kg$ de MS.

As análises de MS, PB, extrato etéreo, resíduo mineral e fibra bruta dos alimentos foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Paraná (UFPR), segundo as normas da AOAC (1970).

As análises de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da UFPR, segundo GOERING e VAN SOEST (1970).

Os minerais Ca e Mg foram analisados por titulometria com Na_2EDTA e o P por gravimetria, no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da UFPR, segundo as normas da AOAC (1970).

Os minerais Na e K foram analisados por Fotometria de Chama, no Laboratório do Departamento de Solos da UFPR.

O mineral Cl foi analisado por titulometria com nitrato de prata e S por gravimetria segundo o método da AOAC (1970), no Laboratório do curso de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da UFPR.

As amostras de sangue para as análises do Ca_i e do Ca_e foram colhidas em tubos de vidro vacutainer, usando heparina como anticoagulante, mediante punção da veia jugular. As colheitas foram realizadas junto com o início da dieta, até doze horas após o parto, e com um, dois, três e sete dias após o parto e foram chamadas de período de colheitas 1, 2, 3, 4, 5 e 6, respectivamente.

Após a colheita, o sangue foi centrifugado durante trinta minutos, para a obtenção do plasma, que foi congelado em nitrogênio líquido ($-196^\circ C$), em duplicata, para posteriores análises dos níveis de Ca_i e Ca_e . O congelamento de amostras de soro em nitrogênio líquido já havia sido realizado por outros autores (OETZEL et al., 1988 e OETZEL et al., 1991).

A análise do Ca_i foi feita por eletrodo íon seletivo Ca^{++} no aparelho ISELAB¹, no Laboratório do Hospital de Animais de Companhia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR).

O Ca_t foi analisado por kit colorimétrico, utilizando o método da cresolftaleína-complexona², no Laboratório do Hospital de Animais de Companhia da PUCPR.

A urina foi colhida no período da manhã, durante a micção espontânea das vacas, em recipientes adequados e a leitura do pH foi realizada dentro de no máximo uma hora. A colheita foi realizada semanalmente, do início da dieta até o parto. Os dados foram agrupados em 3 períodos, sendo que o período 1 representava as amostras colhidas no início do experimento, o período 2 as amostras colhidas entre 20 e 11 dias antes do parto e o período 3 as amostras colhidas entre 10 dias antes e o dia do parto.

A análise do pH foi realizada por medidor de pH portátil da marca Quimis³, modelo Q400B.

Os dados de pH urinário, Ca_t e Ca_i foram analisados pelo Programa Computacional MSTAT (1989), versão 1.41, utilizando os procedimentos ANOVA 1 e FACTOR. Os dados de incidência de paresia da parturiente foram analisados pelo programa computacional STATISTICA (1996), versão 5.1, utilizando o teste exato de Fisher. A comparação das médias foi realizada pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A produção na lactação anterior e o número de partos também foi testada pelo procedimento ANOVA 1 do programa computacional MSTAT para verificar se havia diferenças entre os grupos. Se estes fatores apresentassem diferenças significativas, seriam utilizados como covariáveis para as análises de incidência de paresia da parturiente e das concentrações de Ca_i e Ca_t .

¹ Fabricado por DRAKE ELETRÔNICA E COMÉRCIO LTDA (Rua Mal. Xavier da Câmara, 29. CEP 02517-190. São Paulo, SP - Brasil).

² BIOCLIN®, fabricado por QUIBASA QUÍMICA BÁSICA LTDA (Rua Teles de Menezes, 92. CEP 31565-130. Belo Horizonte, MG - Brasil).

³ QUIMIS APARELHOS CIENTÍFICOS LTDA (Rua Gema, 278. CEP 09930-290. Diadema, SP - Brasil).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fornecimento da dieta aniônica, iniciando quatro semanas antes da data prevista para o parto, foi adequado, uma vez que nenhuma das vacas que pariram antes do previsto recebeu a dieta por menos de 14 dias. Este período foi superior ao de OETZEL et al. (1988), que iniciaram a dieta 21 dias antes do parto, mas que acabaram substituindo oito vacas do experimento porque pariram antes do previsto e receberam a dieta por menos de 11 dias, e inferior ao de BLOCK (1984), que forneceu a dieta por um período de 45 dias.

Não houve diferença entre os grupos para produção de leite na lactação anterior e para número de partos, tanto quando se utilizaram os dados das 35 vacas do estudo da incidência de paresia da parturiente quanto para os dados das 21 vacas do estudo dos níveis de Ca_t , Ca_i e pH urinário (Tabela 2).

TABELA 2 – MÉDIA E DESVIO-PADRÃO PARA A PRODUÇÃO DE LEITE NA LACTAÇÃO ANTERIOR E NÚMERO DE PARTOS NOS GRUPOS

GRUPOS	PRODUÇÃO DE LEITE (kg)	Nº DE PARTOS
1	8404 ± 2375	3,29 ± 1,38
2	8733 ± 1145	3,00 ± 1,15
3	8946 ± 1300	3,00 ± 0,82

4.1 INCIDÊNCIA DE PARESIA DA PARTURIENTE

Embora este trabalho não tivesse o objetivo de avaliar o efeito da dieta aniônica sobre a paresia da parturiente, os resultados obtidos foram testados também para este efeito.

A incidência de paresia da parturiente foi de 20% (3 de 15 vacas) para o grupo 1, 18% (2 de 11) para o grupo 2 e 0% (0 de 9) para o grupo 3, mas sem diferença estatística ($P > 0,05$, teste exato de Fisher).

Dados semelhantes foram obtidos por OETZEL et al. (1988); GAYNOR et al. (1989); TUCKER et al. (1992); JOYCE et al. (1997); MOORE et al. (2000); e no Brasil, por CAMPOS et al. (1998c); SETTI et al. (1998); SETTI et al. (2001c), que não encontraram efeito da dieta aniônica sobre a incidência de paresia da parturiente.

Número reduzido de animais (GAYNOR et al., 1989); uso de novilhas ou vacas com menos de três lactações (TUCKER et al., 1992; CAMPOS et al., 1998c; SETTI et al., 1998; MOORE et al., 2000; SETTI et al., 2001c); uso de dietas aniônicas com DCAD acima de 0 mEq/kg de MS (GAYNOR et al., 1989; SETTI et al., 1998) e baixa incidência de paresia da parturiente (OETZEL et al., 1988; GAYNOR et al., 1989; TUCKER et al., 1992; JOYCE et al., 1997; CAMPOS et al., 1998c; SETTI et al., 1998; MOORE et al., 2000; SETTI et al., 2001c) contribuíram para que não houvesse efeito da dieta aniônica sobre a incidência de paresia da parturiente nestes trabalhos.

Resultados diferentes foram obtidos por DISHINGTON (1975); BLOCK (1984); GOFF et al. (1991a); GOFF e HORST (1997a); GOFF e HORST (1998).

Todos estes trabalhos tiveram alta incidência da paresia da parturiente, o que contribuiu para encontrar diferença entre os grupos. A maior incidência encontrada nestes trabalhos foi devido à utilização de animais mais velhos, com quatro ou mais lactações (BLOCK, 1984; GOFF e HORST, 1997a; GOFF e HORST, 1998), raças mais susceptíveis, como a raça Jersey (GOFF e HORST, 1997a; GOFF e HORST, 1998), dietas altamente catiônicas para o grupo controle (DISHINGTON, 1975; GOFF et al., 1991a), ou uma combinação destes fatores.

Das cinco vacas com paresia da parturiente deste trabalho, uma estava na terceira lactação, duas na quinta, uma na sexta e uma na nona lactação, e todas tiveram produção de leite na lactação anterior acima de 8.000 kg. Assim como no trabalho de ORTOLANI (1995a), nenhuma das vacas de segunda lactação apresentou paresia da parturiente. ORTOLANI (1995a) também observou que a incidência de paresia da parturiente nas vacas de terceira lactação foi de apenas 1,4%, contra os 8% (uma de 13 vacas) deste trabalho. Das 35 vacas, 60% eram de segunda ou terceira lactação e isto contribuiu para a baixa incidência de paresia da parturiente neste trabalho. Das vacas com quatro ou mais lactações, 29% (4 de 14) apresentaram paresia da parturiente, mas

estas representaram apenas 40% de todas as vacas. O uso de animais mais velhos, com maior risco de ocorrência de paresia da parturiente, aumentaria a incidência desta doença e indicaria melhor o efeito preventivo da dieta aniônica sobre a paresia da parturiente.

A baixa incidência de paresia da parturiente, o uso de animais de segunda e terceira lactações e o pequeno número de animais deste trabalho contribuíram para que não houvesse diferença estatística entre os grupos.

4.2 CONCENTRAÇÕES DE CÁLCIO TOTAL E CÁLCIO IÔNICO

Nenhuma das 21 vacas utilizadas para as avaliações dos níveis de Ca_t , Ca_i e pH urinário teve paresia da parturiente.

A análise de variância para o Ca_t e para o Ca_i encontram-se na Tabela 3.

TABELA 3 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA CÁLCIO TOTAL (Ca_t) E CÁLCIO IÔNICO (Ca_i)

VARIÁVEL	FONTE DE VARIAÇÃO	VALOR DE F	PROBABILIDADE
Ca_t	Dieta	1,2954	ns ⁽¹⁾
	Período de colheita	19,7751	0,0000** ⁽²⁾
	Interação	0,8936	ns
Ca_i	Dieta	0,5671	ns
	Período de colheita	16,0716	0,0000**
	Interação	0,4918	ns

(1) não significativo

(2) ** $P < 0,01$

O Ca_t e o Ca_i não diferiram entre as dietas para nenhum dos períodos estudados e nem para a interação dieta e período de colheita, mas houve diferenças significativas entre os períodos de colheita ($P < 0,01$). O dia do parto (período 2) teve os menores valores tanto para o Ca_t (7,52 mg/dL) quanto para o Ca_i (3,974 mg/dL). Os valores médios obtidos para o Ca_t e o Ca_i podem ser visualizados na Tabela 4.

TABELA 4 – MÉDIA E DESVIO-PADRÃO OBTIDOS PARA A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE CÁLCIO TOTAL (Ca_t) E DE CÁLCIO IÔNICO (Ca_i), NOS TRATAMENTOS E PERÍODOS DE COLHEITA

PERÍODOS DE COLHEITA	GRUPOS			Média
	1	2	3	
	Ca_t (mg/dL)			
1	9,518 ± 0,45	8,792 ± 0,72	9,230 ± 0,63	9,180 a
2	7,552 ± 1,08	7,107 ± 0,83	7,902 ± 0,69	7,520 b
3	8,179 ± 0,53	7,485 ± 1,06	8,094 ± 1,13	7,919 ab
4	8,780 ± 0,85	8,364 ± 0,98	8,750 ± 1,06	8,631 a
5	9,225 ± 0,68	8,901 ± 0,90	8,830 ± 0,81	8,985 a
6	9,311 ± 0,71	9,541 ± 0,88	9,031 ± 0,34	9,294 a
Média	8,761	8,365	8,639	
	Ca_i (mg/dL)			
1	4,840 ± 0,35	4,783 ± 0,28	4,877 ± 0,34	4,833 a
2	4,009 ± 0,73	3,803 ± 0,63	4,111 ± 0,35	3,974 d
3	4,246 ± 0,44	3,863 ± 0,41	4,209 ± 0,51	4,106 cd
4	4,431 ± 0,22	4,366 ± 0,36	4,383 ± 0,43	4,393 bc
5	4,594 ± 0,41	4,674 ± 0,35	4,554 ± 0,34	4,608 ab
6	4,689 ± 0,35	4,691 ± 0,47	4,711 ± 0,21	4,697 ab
Média	4,468	4,363	4,474	

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si à 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Resultados semelhantes foram observados por GAYNOR et al. (1989) e SETTI et al. (1998), com Ca_v , e por CAMPOS et al. (1998b) e SETTI et al. (2001a), com Ca_t e Ca_i , que também não encontraram diferenças nos níveis de Ca entre os grupos aniônicos e catiônicos à parição. SETTI et al. (1998) e SETTI et al. (2001a), assim como neste trabalho, não observaram casos de paresia da parturiente nas vacas estudadas, enquanto que CAMPOS et al. (1998b) observaram apenas um caso em uma vaca primípara. Baseado no trabalho de BLOCK (1984), onde as vacas alimentadas com dieta catiônica, que não apresentaram paresia da parturiente, tiveram concentração de Ca_t normal durante três dias antes e três dias após o parto, pode-se afirmar que a não ocorrência de paresia da parturiente destes trabalhos contribuiu para não se encontrar diferenças entre os grupos catiônicos e aniônicos.

Resultados diferentes deste estudo foram encontrados por diversos autores trabalhando com Ca_t (BLOCK, 1984; GOFF et al., 1991a; TUCKER et al., 1992; GOFF e HORST, 1997a; GOFF e HORST, 1998), com Ca_i (WANG e BEEDE, 1992; MOORE et al., 2000) ou com Ca_t e Ca_i (OETZEL et al., 1988; ABU DAMIR et al.,

1994; PHILLIPPO et al., 1994; JOYCE et al., 1997), que encontraram maiores concentrações de Ca ao parto com o uso da dieta aniônica.

Todos os trabalhos acima tiveram casos de paresia da parturiente.

A ocorrência de hipocalcemia subclínica medida através da concentração de Ca_t foi de 29% (2 de 7 vacas) para o grupo 1, 57% (4 de 7 vacas) para o grupo 2 e de 57% (4 de 7 vacas) para o grupo 3, enquanto que medida através da concentração de Ca_i foi de 29% (2 de 7 vacas) para o grupo 1, 57% (4 de 7 vacas) para o grupo 2 e de 86% (6 de 7 vacas) para o grupo 3. Não houve diferença significativa entre os grupos ($P>0,05$, teste exato de Fisher), mas houve uma tendência ($P=0,1026$) do grupo 3 ter uma incidência maior de hipocalcemia subclínica do que o grupo 1, quando medida através da concentração de Ca_i .

Embora as médias de produção de leite na lactação anterior não tenham sido estatisticamente diferentes entre os três grupos, a distribuição das vacas de acordo com os níveis de produção (Figura 1) mostra que o grupo 1 teve o maior número de animais com menos de 7.000 kg de leite produzidos na lactação anterior. Estes são menos susceptíveis a paresia da parturiente e a hipocalcemia subclínica.

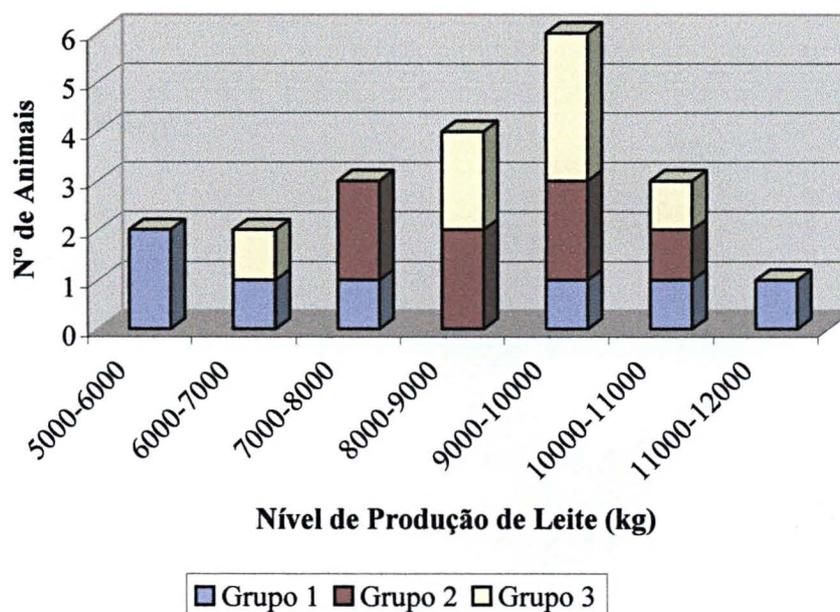
Os valores de pH urinário deste trabalho foram acima daqueles recomendados por JARDON (1995), DAVIDSON et al. (1995) e MOORE et al. (2000), sugerindo que a acidose desenvolvida pelas vacas deste estudo não foi suficiente para prevenir a ocorrência de hipocalcemia subclínica, contudo a média de Ca_t e Ca_i das vacas do grupo aniônico foi normal para todos os períodos estudados, enquanto que para o grupo 2 as médias foram abaixo do limite normal para Ca_t e Ca_i no parto e um dia após.

OETZEL et al. (1988) colocam que o efeito preventivo da dieta aniônica sobre a hipocalcemia subclínica só ocorreu quando a dieta apresentou altos níveis de Ca (1,2%) na dieta. No presente estudo, o nível de Ca na dieta aniônica foi de 0,70%.

Os valores mais baixos de Ca_i e de Ca_t foram, respectivamente, de 2,56 e 5,18 mg/dL para o grupo 1, 3,06 e 5,52 mg/dL para o grupo 2 e 3,58 e 7,08 mg/dL para o grupo 3, indicando que a hipocalcemia subclínica foi mais severa no grupo catiônico. Este resultado está de acordo com os de GAYNOR et al. (1989), que também não

encontraram diferença na concentração de Ca_t , mas colocaram que todas as vacas do grupo mais aniônico mantiveram a concentração de Ca_t acima de 6,2 mg/dL, o que não ocorreu com os demais grupos.

FIGURA 1 – DISTRIBUIÇÃO DAS VACAS SEGUNDO O NÍVEL DE PRODUÇÃO DE LEITE NA LACTAÇÃO ANTERIOR



4.3 PH URINÁRIO

A análise de variância do pH urinário encontra-se na Tabela 5.

TABELA 5 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA O PH URINÁRIO

VARIÁVEL	FONTE DE VARIAÇÃO	VALOR DE F	PROBABILIDADE
pH urinário	Dieta	3,7904	0,0423 ^{*(1)}
	Período de colheita	6,8831	0,0029 ^{** (2)}
	Interação	3,6158	0,0141*

(1) *P<0,05

(2) **P<0,01

O pH urinário diferiu significativamente entre as dietas (P<0,05), períodos de colheita (P<0,01) e interação dieta e período de colheita (P<0,05). O grupo 3 apresentou o menor valor de pH urinário no período de colheita 2 (7,238) em relação

ao período de colheita 1 (8,094) e em relação ao grupo 1 (8,045) para o mesmo período. Os valores médios de pH urinário podem ser visualizados na Tabela 6.

TABELA 6 – MÉDIA E DESVIO-PADRÃO OBTIDOS PARA O PH URINÁRIO NOS TRATAMENTOS E PERÍODOS DE COLHEITA

GRUPOS	PERÍODO DE COLHEITA			Média
	1	2	3	
1	7,934 ± 0,45 aA	8,045 ± 0,22 aA	7,873 ± 0,27 aA	7,951
2	7,849 ± 0,38 aA	7,724 ± 0,40 abA	7,482 ± 0,47 aA	7,685
3	8,094 ± 0,22 aA	7,238 ± 0,65 bB	7,303 ± 0,42 aB	7,545
Média	7,959	7,669	7,552	

Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem entre si à 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A diminuição do pH urinário demonstrou que a dieta aniônica foi capaz de induzir uma acidose metabólica suave nas vacas, que foi a resposta esperada para a prevenção da paresia da parturiente. Este efeito tem sido observado por diversos autores (FREDEEN et al., 1988a; GOFF et al., 1991a; TUCKER et al., 1992; WANG e BEEDE, 1992; JOYCE et al., 1997; GOFF e HORST, 1997a; CAMPOS et al., 1998b; GOFF e HORST, 1998; VAGNONI e OETZEL, 1998; MOORE et al., 2000; SETTI et al., 2001b).

Embora tenha ocorrido uma redução de pH urinário no grupo 3, esta redução não foi suficiente para impedir a ocorrência da hipocalcemia subclínica neste grupo. Este resultado é semelhante ao obtido por JOYCE et al. (1997).

Os valores de pH urinário deste trabalho, assim como no de JOYCE et al. (1997), foram maiores do que os recomendados por JARDON (1995) e MOORE et al. (2000), que colocam que o pH urinário deve ficar entre 6 e 7, e por DAVIDSON et al. (1995) que recomendam entre 5,5 e 6,5, para a prevenção da paresia da parturiente e hipocalcemia subclínica.

MOORE et al. (2000) conseguiram prevenir a hipocalcemia subclínica, com um pH urinário de 6,01 para o grupo aniônico (DCAD de -15 mEq/100 g de MS) durante o período pré-parto contra um pH de 7,95 para o grupo catiônico (DCAD de +15 mEq/100 g de MS).

Muitos trabalhos têm mostrado a redução do pH urinário pelo fornecimento de sais aniônicos, mas o valor da DCAD e os valores de Ca obtidos no momento do parto variam muito e é difícil estabelecer o valor ideal da DCAD e do pH urinário que mantém a concentração de Ca acima dos valores normais (Tabela 7).

TABELA 7 – CÁLCIO TOTAL (Ca_t), CÁLCIO IÔNICO (Ca_i) E PH URINÁRIO DE DIVERSOS TRABALHOS COM DCAD

AUTORES	GRUPO ANIÔNICO				GRUPO CATIONICO			
	DCAD ⁽¹⁾	Ca_t ⁽²⁾	Ca_i ⁽²⁾	pH ⁽³⁾	DCAD ⁽¹⁾	Ca_t ⁽²⁾	Ca_i ⁽²⁾	pH ⁽³⁾
BLOCK (1984)	-128,5	>8,0	-	-	+330,5	6,2	-	-
OETZEL et al. (1988)	-75	8,4	4,05	-	+180	7,4	3,56	-
FREDEEN et al. (1988a) ⁽⁴⁾	+7	-	-	5,59	+900	-	-	8,11
GAYNOR et al. (1989) ⁽⁴⁾	+220	7,01	-	-	+1.258	6,43	-	-
GOFF et al. (1991a)	-228	7,63	-	7,2	+978	6,58	-	8,3
TUCKER et al. (1992)	-30	8,16	-	6,14	+90	6,72	-	8,22
WANG e BEEDE (1992)	-428	-	-	5,93	+69	-	-	7,88
ABU DAMIR et al. (1994)	-35	8,8	4,4	-	+779	7	3,44	-
PHILLIPPO et al. (1994)	-8	9,36	4,8	-	+534	8,04	4,64	-
GOFF e HORST (1997a)	-54	6,9	-	5,75	+461	5,22	-	8,17
JOYCE et al. (1997)	-70	-	4,31	7,19 ⁽⁵⁾	+350	-	3,87	8,4 ⁽⁵⁾
GOFF e HORST (1998)	HCl ⁽⁶⁾	6,69	-	-	s/HCl	5,33	-	-
CAMPOS et al. (1998b)	-75	7,81	4,33	5,92	+186	7,89	4,35	7,76
VAGNONI e OETZEL (1998)	-63	-	-	7,2	+203	-	-	8,33
SETTI et al. (1998)	+90	8,59	-	-	+180	8,56	-	-
MOORE et al. (2000)	-150	-	4,35	6,01	+150	-	3,67	7,95
SETTI et al. (2001a/b)	-50,8	7,88	4,13	6 ⁽⁷⁾	+146,8	8,13	4,36	7,9 ⁽⁷⁾

(1) $(Na+K) - (Cl + S)/kg$ de MS.

(2) concentração em mg/dL, no dia do parto.

(3) pH urinário da semana anterior ao parto ou conforme a legenda.

(4) $(Na+K-Cl)/kg$ de MS.

(5) dois dias antes do parto

(6) 1,5 Eq de HCl por dia.

(7) 2 semanas antes do parto.

A diversidade encontrada nos resultados de trabalhos com DCAD revela a complexidade envolvida no controle do equilíbrio ácido-básico em ruminantes e da influência deste na homeostasia do Ca. Isto acaba limitando as conclusões a respeito do papel da DCAD no metabolismo do Ca.

Diferenças na resposta individual das vacas podem explicar os resultados inesperados de alguns trabalhos, principalmente quando se utiliza um pequeno número de animais.

Outros fatores como o papel dos outros minerais no equilíbrio ácido-básico, tempo entre o parto e a primeira ordenha, produção de leite na primeira ordenha, influência dos hormônios reprodutivos sobre o metabolismo de Ca, nível de suplementação de vitamina D no período pré-parto, devem ser melhor estudados para um maior entendimento dos fatores que influenciam o metabolismo de Ca.

Devido a homeostase do Ca depender principalmente da ação dos hormônios PTH e $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, e estes da expressão dos genes associados a sua produção e de seus receptores, a variação genética entre as vacas também deve ser investigada com o objetivo de identificar e selecionar os animais mais resistentes à queda dos níveis de Ca no momento do parto.

Estes fatores podem contribuir para o esclarecimento do principal defeito metabólico que leva à paresia da parturiente. Enquanto sua verdadeira causa não é descoberta, a utilização da dieta aniônica continua sendo o principal método para a sua prevenção.

5 CONCLUSÃO

- A redução na diferença catiônica-aniônica da dieta induziu a uma acidose metabólica suave nas vacas, como demonstrado pela diminuição do pH urinário, mas não afetou os níveis de cálcio total e cálcio iônico entre os três grupos estudados.
- O dia do parto teve os menores valores para cálcio total e cálcio iônico em todas as dietas.

REFERÊNCIAS

ABU DAMIR, H.; PHILLIPPO, M.; THORP, B.H.; MILNE, J.S.; DICK, L.; NEVISON, I.M. Effects of dietary acidity on calcium balance and mobilization, bone morphology and 1,25 dihydroxyvitamin D in prepartal dairy cows. **Res. Vet. Sci.**, v.56, p.310-318, 1994.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 11 ed., 1970. 1075p.

BECK, N.; WEBSTER, S.K. Effects of acute metabolic acidosis on parathyroid hormone action and calcium mobilization. **Am. J. Physiol.**, v.230, n.1, p.127-131, 1976.

BLOCK, E. Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk fever. **J. Dairy Sci.**, v.67, n.12, p.2939-2948, 1984.

BLOCK, E. Manipulation of dietary cation-anion difference on nutritionally related production diseases, productivity, and metabolic responses of dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v.77, n.5, p.1437-1450, 1994.

BUSHINSKY, D.A.; Metabolic alkalosis decreases bone calcium efflux by suppressing osteoclasts and stimulating osteoblasts. **Am. J. Physiol.**, v.271, n.40, p.F216-F222, 1996.

CAMPOS, J.M.; GRAÇA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; GONÇALVES, L.C.; TORRES, R.A. Balanço dietético cátion-ânion na alimentação de vacas leiteiras, no pré-parto. I – Consumo, digestibilidade e absorção aparente. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA (35.: Botucatu: 1998). **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998a. p.539-541.

CAMPOS, J.M.; GRAÇA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; GONÇALVES, L.C.; TORRES, R.A. Balanço dietético cátion-ânion na alimentação de vacas leiteiras, no pré-parto. II – Metabolismo mineral. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA (35.: Botucatu: 1998). **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998b. p.542-544.

CAMPOS, J.M.; GRAÇA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; GONÇALVES, L.C.; TORRES, R.A. Balanço dietético cátion-ânion na alimentação de vacas leiteiras, no pré-parto. III – Distúrbios metabólicos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA (35.: Botucatu: 1998). **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998c. p.545-547.

CURTIS, C.R.; ERB, H.N.; SNIFFEN, C.J.; SMITH, R.D.; POWERS, P.A.; SMITH, M.C.; WHITE, M.E.; HILLMAN, R.B.; PEARSON, E.J. Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. **JAVMA**, v.183, n.5, 1983.

DAVIDSON, J.; RODRIGUEZ, L.; PILBEAM, T.; BEEDE, D. Urine pH check helps avoid milk fever. **Hoard's Dairyman**, v.140, p.634, 1995.

DELAQUIS, A.M.; BLOCK, E. Acid-base status, renal function, water, and macromineral metabolism of dry cows fed diets differing in cation-anion difference. **J. Dairy Sci.**, v.78, n.3, p.604-619, 1995.

DISHINGTON, W. Prevention of milk fever (hypocalcemic paresis puerperalis) by dietary salt supplements. **Acta Vet. Scand.**, v.16, p.503-512, 1975.

ERB, H.N.; GROHN, Y.T. Epidemiology of metabolic disorders in the periparturient dairy cow. **J. Dairy Sci.**, v.71, n.9, p.2557-2571, 1988.

FREDEEN, A.H.; DEPETERS, E.J.; BALDWIN, R.L. Characterization of acid base disturbances and effects on calcium and phosphorus balances of dietary fixed ions in pregnant or lactating does. **J. Anim. Sci.**, v.66, p.159-173, 1988a.

FREDEEN, A.H.; DEPETERS, E.J.; BALDWIN, R.L. Effects of acid base disturbances caused by differences in dietary fixed ion balance on kinetics of calcium metabolism in ruminants with high calcium demand. **J. Anim. Sci.**, v.66, p.174-184, 1988b.

GAYNOR, P.J.; MUELLER, F.J.; MILLER, J.K.; RAMSEY, N.; GOFF, J.P.; HORST, R.L. Parturient hypocalcemia in Jersey cows fed alfalfa haylage-based diets with different cation to anion ratios. **J. Dairy Sci.**, v.72, n.10, p.2525-2531, 1989.

GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. Forage fiber analyses. Agric. Handbook n.379, **Agric. Res. Serv.**, US Dep. Agric., Washington, DC, 1970.

GOFF, J.P. Cation-anion difference of diets and its influence on milk fever and subsequent lactation: the good and the bad news. **Proc. Cornell Nutr. Conf.**, p.148-159, 1992.

GOFF, J.P.; HORST, R.L. Effects of the addition of potassium or sodium, but not calcium, to prepartum rations on milk fever in dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v.80, n.1, p.176-186, 1997a.

GOFF, J.P.; HORST, R.L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **J. Dairy Sci.**, v.80, n.7, p.1260-1268, 1997b.

GOFF, J.P.; HORST, R.L. Use of hydrochloric acid as a source of anions for prevention of milk fever. **J. Dairy Sci.**, v.81, n.11, p.2874-2880, 1998.

GOFF, J.P.; HORST, R.L.; MUELLER, F.J.; MILLER, J.K.; KIESS, G.A.; DOWLEN, H.H. Addition of chloride to a prepartal diet high in cations increases 1,25-dihydroxyvitamin D response to hypocalcemia preventing milk fever. **J. Dairy Sci.**, v.74, n.11, p.3863-3871, 1991a.

GOFF, J.P.; LITLEDIKE, E.T.; HORST, R.L. Effect of synthetic bovine parathyroid hormone in dairy cows: prevention of hypocalcemic parturient paresis. **J. Dairy Sci.**, v.69, n.9, p.2278-2289, 1986.

GOFF, J.P.; REINHARDT, T.A.; HORST, R.L. Enzymes and factors controlling vitamin D metabolism and action in normal and milk fever cows. **J. Dairy Sci.**, v.74, n.11, p.4022-4032, 1991b.

GOFF, J.P.; REINHARDT, T.A.; HORST, R.L. Milk fever and dietary cation-anion balance effects on concentration of vitamin D receptor in tissue of periparturient dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v.78, n.11, p.2388-2394, 1995.

GOFF, J.P.; REINHARDT, T.A.; HORST, R.L. Recurring hypocalcemia of bovine parturient paresis is associated with failure to produce 1,25-dihydroxyvitamin D. **Endocrinology**, v.125, n.1, p.49-53, 1989.

GREEN, H.B.; HORST, R.L.; BEITZ, D.C.; LITLEDIKE, E.T. Vitamin D metabolites in plasma of cows fed a prepartum low-calcium diet for prevention of parturient hypocalcemia. **J. Dairy Sci.**, v.64, n.2, p.217-226, 1981.

HORST, R.L.; GOFF, J.P.; REINHARDT, T.A. Advancing age results in reduction of intestinal and bone 1,25-dihydroxyvitamin D receptor. **Endocrinology**, v.126, p.1053, 1990.

HORST, R.L.; GOFF, J.P.; REINHARDT, T.A. Calcium and vitamin D metabolism in the dairy cow. In: Symposium: calcium metabolism and utilization. **J. Dairy Sci.**, v.77, n.7, p.1936-1951, 1994.

HORST, R.L.; GOFF, J.P.; REINHARDT, T.A.; BUXTON, D.R. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, v.80, n.7, p.1269-1280, 1997.

HORST, R.L.; JORGENSEN, N.A.; DELUCCA, H.F. Plasma 1,25-dihydroxyvitamin D and parathyroid hormone levels in parturient dairy cows. **Am. J. Physiol.**, v.235, n.6, p.E634-E637, 1978.

JARDON, P.W. Using urine pH to monitor anionic salt programs. **Compend. Cont. Educ. Pract.** v.17, p.860-862, 1995.

JOYCE, P.W.; SANCHEZ, W.K.; GOFF, J.P. Effect of anionic salts in prepartum diets based on alfafa. **J. Dairy Sci.**, v.80, n.11, p.2866-2875, 1997.

KANDYLIS, K. Transfer of plasma sulfate from blood to rumen. A review. **J. Dairy Sci.**, v.66, n.11, p.2263-2270, 1983.

LECLERC, H.; BLOCK, E. Effects of reducing dietary cation-anion balance for prepartum dairy cows with specific reference to hypocalcemic parturient paresis. **Can. J. Anim. Sci.**, v.69, p.411, 1989.

LINCOLN, S.D.; LANE, V.M. Serum ionized calcium concentration in clinically normal dairy cattle, and changes associated with calcium abnormalities. **JAVMA**, v.197, n.11, 1990.

LOMBA, F.; CHAUVAUX, G.; TELLER, E.; LENGELE, L.; BIENFET, V. Calcium digestibility in cows as influenced by the excess of alkaline ions over stable acid ions in their diets. **Br. J. Nutr.**, v.39, p.425-429, 1978.

MONGIN, P. Recent advances in dietary anion-cation balance: applications in poultry. **Proc. Nutr. Soc.**, v.40, p.285-294, 1981.

MOORE, S.J.; VANDEHAAR, M.J.; SHARMA, B.K.; PILBEAM, T.E.; BEEDE, D.K.; BUCHOLTZ, H.F.; LIESMAN, J.S.; HORST, R.L.; GOFF, J.P. Effects of altering dietary cation-anion difference on calcium and energy metabolism in peripartum cows. **J. Dairy Sci.**, v.83, n.9, p.2095-2104, 2000.

NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. Washington: National Academy Press, 6.ed. 1989. 138p.

NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. Washington: National Academy Press, 7.ed. 2001. 381p.

OETZEL, G.R. Meta-analysis of nutritional risk factors for milk fever in dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, v.74, n.11, p.3900-3912, 1991.

OETZEL, G.R.; BARMORE, J.A. Intake of a mixture containing various anionic salts fed to pregnant, nonlactating dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v.76, n.6, p.1617-1623, 1993.

OETZEL, G.R.; FETTMAN, M.J.; HAMAR, D.W.; OLSON, J.D. Screening of anionic salts for palatability, effects on acid-base status, and urinary calcium excretion in dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v.74, n.3, p.965-971, 1991.

OETZEL, G.R.; OLSON, J.D.; CURTIS, C.R.; FETTMAN, M.J. Ammonium chloride and ammonium sulfate for prevention of parturient paresis in dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v.71, n.12, p.3302-3309, 1988.

ORTOLANI, E.L. Aspectos clínicos, epidemiológicos e terapêuticos da hipocalcemia de vacas leiteiras. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.47, n.6, p.799-808, 1995a.

ORTOLANI, E.L. Hipocalcemia da vaca parturiente. **Cad. Tec. Esc. Vet. UFMG**, n.14, p.59-71, 1995b.

PHILLIPPO, M.; REID, G.W.; NEVISON, I.M. Parturient hypocalcemia in dairy cows: effects of dietary acidity on plasma minerals and calciotropic hormones. **Res. Vet. Sci.**, v.56, p.303-309, 1994.

ROSOL, T.J.; CAPEN, C.C. Calcium-regulating hormones and diseases of abnormal mineral (calcium, phosphorus, magnesium) metabolism. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (Ed.) **Clinical Biochemistry of domestic animals**. USA: Academic Press. 5.ed., 1997. p. 619-702.

SANCHEZ, W.K.; BLAUWIEKEL, R. **Prevention of milk fever by application of the dietary cation-anion balance concept**. Disponível em: <<http://coopext.cahe.wsu.edu/infopub/eb1783/eb1783.html>> Acesso em: 17 nov. 1999.

SANCHEZ, W.K.; GIESY, J.; GRIFFEL, L. Adjustment of DCAD may improve performance. **Feedstuffs**, p.11-14, 2000.

SETTI, M.C.; SCHALCH, E.; ZANETTI, M.A. Estudo do balanço cátion-aniônico da dieta no desempenho de vacas Holandesas. **R. Bras. Zootec.**, v.27, n.6, p.1241-1247, 1998.

SETTI, M.C.; VIEIRA, P.F.; ZANETTI, M.A.; MARTINS, A.S.; GARCIA, J.A.S.; MELO, G.M.P. Balanço cátion-aniônico da dieta (BCAD) para vacas da raça holandesa, nas concentrações dos macrominerais no sangue. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA (38.: Piracicaba: 2001). **Anais...** Piracicaba: SBZ, 2001a. p.1311-1312.

SETTI, M.C.; VIEIRA, P.F.; ZANETTI, M.A.; MARTINS, A.S.; GARCIA, J.A.S.; MELO, G.M.P. Balanço cátion-aniônico da dieta (BCAD) para vacas da raça holandesa, no estado ácido-base no sangue e na urina. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA (38.: Piracicaba: 2001). **Anais...** Piracicaba: SBZ, 2001b. p.1307-1309.

SETTI, M.C.; VIEIRA, P.F.; ZANETTI, M.A.; MELO, G.M.P.; MARTINS, A.S.; GARCIA, J.A.S. Balanço cátion-aniônico da dieta (BCAD) para vacas da raça holandesa, nas incidências de distúrbios metabólicos e produção de leite. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA (38.: Piracicaba: 2001). **Anais...** Piracicaba: SBZ, 2001c. p.1312-1314.

STACY, B.D.; WILSON, B.W. Acidosis and hypercalciuria: renal mechanisms affecting calcium, magnesium and sodium excretion in the sheep. **J. Physiol.**, v.210, p.549-564, 1970.

STEWART, P.A. Modern quantitative acid-base chemistry. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v.61, p.1444-1461, 1983.

TAKAGI, H.; BLOCK, E. Effects of manipulating dietary cation-anion balance on macromineral balance in sheep. **J. Dairy Sci.**, v.74, n.12, p.4202-4214, 1991a.

TAKAGI, H.; BLOCK, E. Effects of reducing dietary cation-anion balance on calcium kinetics in sheep. **J. Dairy Sci.**, v.74, n.12, p.4225-4237, 1991b.

TAKAGI, H.; BLOCK, E. Effects of various dietary cation-anion balances on response to experimentally induced hypocalcemia in sheep. **J. Dairy Sci.**, v.74, n.12, p.4215-4224, 1991c.

TUCKER, W.B.; HOGUE, J.F.; ADAMS, G.D.; ASLAM, M.; SHIN, I.S.; MORGAN, G. Influence of dietary cation-anion balance during the dry period on the occurrence of parturient paresis in cows fed excess calcium. **J. Anim. Sci.**, v.70, n.4, p.1238-1250, 1992.

TUCKER, W.B.; HOGUE, J.F.; WATERMAN, D.F.; SWENSON, T.S.; XIN, Z.; HEMKEN, R.W.; JACKSON, J.A.; ADAMS, G.D.; SPICER, L.J. Role of sulfur and chloride in the dietary cation-anion balance equation for lactating dairy cattle. **J. Anim. Sci.**, v.69, p.1205-1213, 1991.

VAGG, M.J.; PAYNE, J.M. The effect of ammonium chloride induced acidosis on calcium metabolism in ruminants. **Br. Vet. J.**, v.126, p.531, 1970.

VAGNONI, D.B.; OETZEL, G.R. Effects of dietary cation-anion difference on the acid-base status of dry cows. **J. Dairy Sci.**, v.81, n.6, p.1643-1652, 1998.

WANG, C.; BEEDE, D.K. Effects of ammonium chloride and sulfate on acid-base status and calcium metabolism of dry Jersey cows. **J. Dairy Sci.**, v.75, n.3, p.820-828, 1992.

WANG, C.; VÉLEZ, J.S.; RISCO, C.A. Avanços recentes na prevenção da paresia do parto nas vacas leiteiras. **Compêndio de Educação Continuada**, v.1, n.1, p.63-69, 1996.

WHITING, S.J.; DRAPER, H.H. Effect of a chronic acid load as sulfate or sulfur amino acids on bone metabolism in adult rats. **J. Nutr.**, v.111, p.1721-1726, 1981.