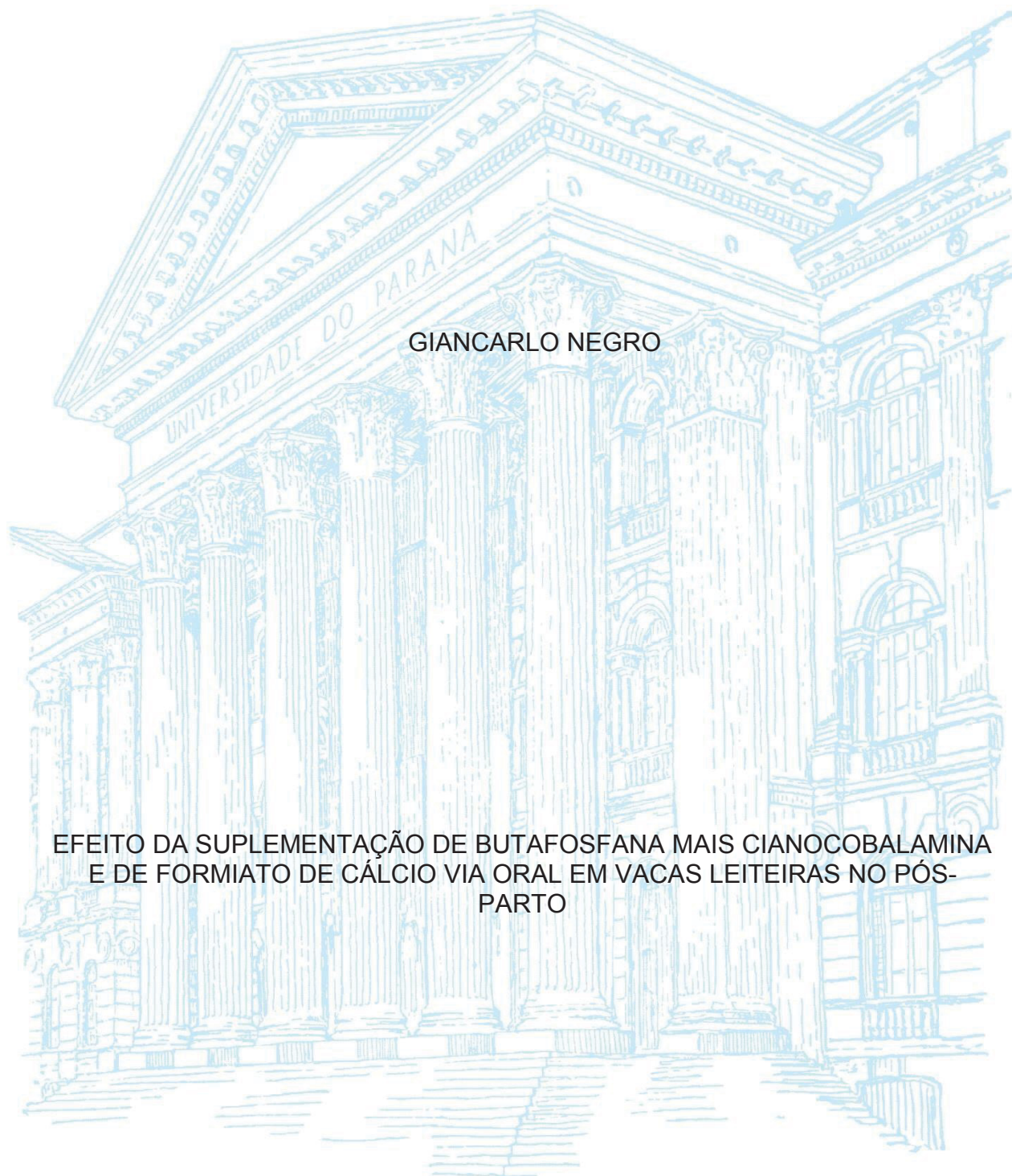


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ



GIANCARLO NEGRO

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE BUTAFOSFANA MAIS CIANOCOBALAMINA
E DE FORMIATO DE CÁLCIO VIA ORAL EM VACAS LEITEIRAS NO PÓS-
PARTO

CURITIBA

2019

GIANCARLO NEGRO

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE BUTAFOSFANA MAIS CIANOCOBALAMINA E
DE FORMIATO DE CÁLCIO VIA ORAL EM VACAS LEITEIRAS NO PÓS-PARTO

Dissertação apresentada como requisito parcial à
obtenção do grau de Mestre em Zootecnia, no
Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, Setor de
Ciências Agrárias, da Universidade Federal do
Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo de Almeida
Co-orientador: Prof. Ph.D. José Eduardo Portela Santos

CURITIBA

2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE BIBLIOTECAS/UFPR -
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, PAULA CARINA DE ARAÚJO -
CRB9/1562 COM OS DADOS FORNECIDOS PELO(A) AUTOR(A)

N393e Negro, Giancarlo
Efeito da suplementação de butafosfana mais cianocobalamina
e de formiato de cálcio via oral em vacas leiteiras no pós-parto /
Giancarlo Negro. - Curitiba, 2019.
62 p.: il.,
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Setor
de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia.
Orientador: Rodrigo De Almeida
1. Leite - produção. 2. Leite - qualidade. 3. Vaca. 4.
Lactação. I. Almeida, Rodrigo De (Orientador). II. Título. III.
Universidade federal do Paraná.

CDU 613-287.5



TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ZOOTECNIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **GIANCARLO NEGRO** intitulada: **Efeito da suplementação de butafosfana mais cianocobalamina e de formiato de cálcio via oral em vacas leiteiras no pós-parto**, após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua A PROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 25 de Março de 2019.

RODRIGO DE ALMEIDA

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

MARGOT NUNES CORRÊA

Avaliador Externo (UFPEL)

SIMONE GISELE DE OLIVEIRA

Avaliador Interno (UFPR)

*A minha mãe Regina, que me mostrou o caminho da
Persistência, honestidade e trabalho duro.*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela vida, saúde restaurada, pela família, por me proporcionar sentido à vida e me guiar no caminho do bem e do conhecimento.

À minha família, mãe, irmã, avó e minha noiva, Nathália, que com muito cuidado, paciência e amor estiveram ao meu lado em todos os momentos dessa trajetória.

À Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR, por possibilitar a realização do estudo de aperfeiçoamento.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rodrigo de Almeida, de caráter impecável, exemplo de pesquisador, incentivador e professor sempre presente durante toda minha vida acadêmica. Tolerou minhas dificuldades e enxergou minhas qualidades. A convivência foi intensa, com muito aprendizado. Meus sinceros agradecimentos.

Aos colegas da Pós-graduação, “Grupo do Leite”, obrigado pelo companheirismo e amizade.

À Profa. Dra. Rosangela Locatelli Dittrich e ao Sr. Olair Beltrame, do Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da UFPR.

Ao Professor Dr. José Eduardo Portela Santos, meu coorientador e sua equipe de mestrandos e doutorandos da Universidade da Flórida, que me auxiliaram e orientaram nessa trajetória.

À Bayer Saúde Animal, nas pessoas do Roger Van Der Vinne, Eduardo Ichikawa, Saul Hatén e do André Pratto pelo apoio no planejamento e execução desse projeto.

RESUMO

O período de transição que engloba as últimas três semanas de gestação e as primeiras três semanas após o parto é de grande interesse para a indústria leiteira, pois a maior parte dos problemas de saúde que afetam o gado leiteiro ocorre nesta fase do ciclo produtivo. As necessidades de cálcio (Ca) aumentam bruscamente nas primeiras horas pós-parto, devido a síntese de colostro e leite e algumas vacas não são capazes de controlar a homeostase de Ca adequadamente, levando à hipocalcemia clínica ou hipocalcemia subclínica. Ainda nesta fase, o consumo alimentar costuma não atender as demandas energéticas de manutenção e produção, e com isso, o organismo aciona rotas catabólicas para suprir o desequilíbrio energético, aumentando o risco de transtornos no metabolismo. O balanço energético negativo (BEN) proporciona um aumento na mobilização de tecido adiposo para suprir a deficiência energética, e quando em excesso, essa alternativa metabólica se torna um risco para a saúde da vaca leiteira. Os objetivos do experimento foram avaliar os efeitos da suplementação oral de Ca e butafosfana mais cianocobalamina injetável sobre o metabolismo mineral e energético. Duzentas e oito vacas Holandesas múltiparas foram distribuídas aleatoriamente em um arranjo fatorial 2x2: Controle Negativo (CN=52), que receberam três injeções subcutâneas (SC) de 25 mL de solução salina em 0, 3 e 7 dias em leite (DEL); Cálcio Oral (CO=52), que receberam por via oral duas doses de 350 mL (50 g de Ca) como formiato de Ca em 0 e 1 DEL; butafosfana mais cianocobalamina (BC=52) que receberam três injeções SC de 25 mL de cianocobalamina (0,005 mg/mL) mais butafosfana (0,1 g/mL) em 0, 3 e 7 DEL; e Controle Positivo (CP=52), que receberam formiato de Ca e cianocobalamina mais butafosfana. A produção diária de leite foi analisada durante os primeiros 100 DEL. O leite foi amostrado e analisado nas duas primeiras semanas pós-parto. O sangue foi amostrado com 3, 7 e 14 dias após o parto para analisar β -hidroxibutirato (BHB) e com 0, 12, 24, 36 e 72 h após o parto para analisar o Ca iônico (iCa). Avaliações clínicas dos animais foram realizadas nos dias 1, 3, 7 e 14 para determinar a incidência de doenças. Os dados foram analisados utilizando os procedimentos MIXED e GLIMMIX do SAS. Vacas que receberam CO apresentaram menor ($P<0,01$) produção de leite que as vacas do grupo controle (47,48 vs. 48,41 kg/dia; EPM = 0,22), e as vacas suplementadas com BC apresentaram maior ($P<0,05$) produção do que as não suplementadas (48,34 vs. 47,55 kg/dia; EPM = 0,26), sem interação ($P>0,10$) entre os tratamentos. A composição do leite e as concentrações de BHB não diferiram ($P>0,10$) entre os tratamentos. Concentrações de iCa foram maiores nas 12h ($P=0,08$) e 36h ($P<0,01$) no tratamento com CO e às 36h ($P=0,05$) no tratamento com BC, com interação ($P=0,05$) entre os tratamentos às 36h. A incidência de cetose subclínica foi menor ($P=0,03$) em vacas tratadas com CO do que em vacas não tratadas. Houve uma menor ($P<0,01$) incidência de mastite em vacas tratadas com BC do que nas não tratadas. Outros distúrbios não diferiram ($P>0,10$) entre os tratamentos. Nossos resultados mostraram que a suplementação de CO aumentou as concentrações de iCa e reduziu a incidência de cetose, mas com menor produção de leite. Vacas que receberam BC pós-parto apresentaram maiores produções de leite, com menor incidência de mastite. O sinergismo dessas moléculas mostra-se promissor para vacas no período de transição, pois parece haver interação entre o metabolismo energético e mineral.

Palavras-chave: cetose, febre do leite, hipocalcemia, período de transição.

ABSTRACT

The transition period that encompasses the last 3 to 4 weeks of gestation and the first 3 to 4 weeks following the birth is of great scientific interest, being that the majority of health problems that affect dairy cattle occur during this part of the cow's life cycle. The necessity for calcium (Ca) increases dramatically, due to the synthesis of colostrum and milk, and that some cows are not able to control the homeostasis of Ca adequately, causing the development of subclinical hypocalcemia. During this phase, nutritional ingestion tends to not fulfill the caloric demand for maintenance and production. In the beginning stages of lactation for a dairy cow, the daily nutritional needs increase around 75%, permitting this caloric deficit to persist for 10 to 12 weeks. The organism triggers catabolic channels to supplement the caloric imbalance, increasing the risk of metabolic disorders. The emergence of a negative energy balance (BEN) initiates the mobilization of the animal's reserve tissue as a means to supplement the caloric deficit, and when excessive, this metabolical alternative becomes a risk for the dairy cow's health. Two-hundred and eight multiparous Holsteins were randomly assigned in a 2x2 factorial arrangement: Negative Control (NC=52), which received three subcutaneous (SC) injections of 25 mL of saline solution at 0, 3, and 7 DIM; Oral Ca (OC=52), which received orally two doses of 350 mL (50 g of Ca) as Ca formate at 0 and 1 DIM; Cyanocobalamin plus Butafosfan (CB=52) which received three SC injections of 25 mL of cyanocobalamin (0.005 mg/mL) plus butafosfan (0.1 g/mL) at 0, 3, and 7 DIM; and Positive Control (PC=52), which received Ca formate and cyanocobalamin plus butafosfan. Daily milk yield was recorded during the first 100 DIM. Milk was sampled and analyzed in the first two weeks postpartum. Blood was sampled at 3, 7 and 14 DIM to analyze β -hydroxybutyrate (BHB) and at 0, 12, 24, 36 and 72 h postpartum to analyze ionized Ca (iCa). Clinical evaluations on days 1, 3, 7 and 14 were performed to determine incidence of diseases. Data were analyzed using the MIXED and GLIMMIX procedures of SAS. Cows which orally received OC had lower ($P<0.01$) milk yields than control ones (47.48 vs. 48.41 kg/d; SEM=0.22), and cows supplemented with CB had higher ($P<0.05$) yields than non-treated ones (48.34 vs. 47.55 kg/d; SEM=0.26), with no ($P>0.10$) interaction. Milk composition and BHB concentrations did not differ ($P>0.10$) among treatments. Concentrations of iCa were higher at 12h ($P=0.08$) and 36h ($P<0.01$) in the OC treatment and at 36h ($P=0.05$) in the CB treatment, with ($P=0.05$) interaction at 36h. The incidence of subclinical ketosis was lower in cows treated with OC ($P=0.03$) than non-OC treated cows. There was a lower incidence of mastitis in cows treated with CB ($P<0.01$) than non-CB treated ones. Other disorders did not differ ($P>0.10$) among treatments. Our results show that OC supplementation increased iCa concentrations and reduced incidence of ketosis, but they had lower milk yields. Cows that received CB postpartum had increased milk yield and reduced incidence of mastitis. The synergy of these molecules demonstrates promising results for cows in this transitional period, as implementing these molecules in the animal's organism suppresses probable metabolic and mineral demands.

Keywords: Dairy cattle, β -hydroxybutyrate, Postpartum

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1** – MÉDIAS DE PRODUÇÃO DE LEITE EM 100 DIAS DE LACTAÇÃO COMPARANDO OS TRATAMENTOS E SUAS INTERAÇÕES. (*) INDICA QUAL TRATAMENTO APRESENTOU DIFERENÇA ($P \leq 0,05$)..... 50
- FIGURA 2** – MÉDIAS DE CONCENTRAÇÃO DE BHB (FITA) EM TRÊS DIFERENTES MOMENTOS DE AFERIÇÃO COMPARANDO OS TRATAMENTOS E SUAS INTERAÇÕES..... 50
- FIGURA 3** - MÉDIAS DE CONCENTRAÇÃO DE ICA EM CINCO DIFERENTES MOMENTOS DE AFERIÇÃO COMPARANDO OS TRATAMENTOS E SUAS INTERAÇÕES. (*) INDICA EM QUAIS TEMPOS HOVE DIFERENÇA ($P \leq 0,05$)... 51
- FIGURA 4** - MÉDIAS DE CONCENTRAÇÃO DE ICA NO PÓS-PARTO COMPARANDO OS TRATAMENTOS E SUAS INTERAÇÕES. (*) INDICA EM QUAL TRATAMENTO HOVE DIFERENÇA ($P \leq 0,05$)..... 51
- FIGURA 5** – INCIDÊNCIA DE HCS EM CINCO DIFERENTES MOMENTOS DE AFERIÇÃO COMPARANDO OS TRATAMENTOS E SUAS INTERAÇÕES. (*) INDICA EM QUAIS TEMPOS HOVE DIFERENÇA ($P \leq 0,05$)..... 52

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – ROTINA DE COLETAS E OS PARÂMETROS ANALISADOS NOS DISTINTOS TEMPOS EXPERIMENTAIS:	36
TABELA 2 – COMPOSIÇÃO DAS DIETAS PRÉ E PÓS-PARTO OFERECIDAS AOS ANIMAIS EXPERIMENTAIS (EM %MS):	40
TABELA 3 - MÉDIAS DE PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE DOS TRATAMENTOS E SUAS INTERAÇÕES:	42
TABELA 4 - MÉDIAS DE CONCENTRAÇÃO DE CÁLCIO IÔNICO E BETA-HIDROXIBUTIRATO AO LONGO DO EXPERIMENTO DOS TRATAMENTOS E SUAS INTERAÇÕES:	43
TABELA 5 - INCIDÊNCIA DE DOENÇAS NO PÓS-PARTO COMPARANDO OS TRATAMENTOS E SUAS INTERAÇÕES:	44
TABELA 6 - ANÁLISES BIOQUÍMICAS REALIZADAS NO PÓS-PARTO COMPARANDO OS TRATAMENTOS E SUAS INTERAÇÕES:.....	45

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 PERÍODO DE TRANSIÇÃO EM VACAS LEITEIRAS	12
2.2 METABOLISMO DO CÁLCIO E HIPOCALCEMIA.....	14
2.3 CÁLCIO ORAL COMO PREVENÇÃO DA HIPOCALCEMIA SUBCLÍNICA.....	20
2.4 BALANÇO ENERGÉTICO NEGATIVO.....	21
2.5 SUPLEMENTAÇÃO DE BUTAFOSFANA E CIANOCOBALAMINA.....	23
3 REFERÊNCIAS	24
CAPÍTULO I – EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE BUTAFOSFANA MAIS CIANOCOBALAMINA E FORMIATO DE CÁLCIO EM VACAS LEITEIRAS NO PÓS-PARTO	33
RESUMO	31
ABSTRACT	32
1 INTRODUÇÃO	33
2 MATERIAL E MÉTODOS	34
2.1 LOCAL DO EXPERIMENTO	34
2.2 PROGRAMAÇÃO DO EXPERIMENTO	35
2.3 TRATAMENTOS	35
2.4 COLETA DE DADOS	38
2.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	35
3 RESULTADOS	39
4 DISCUSSÃO	50
4.1 GERAL.....	50
4.3 PRODUÇÃO DE LEITE	50
4.3 CONCENTRAÇÕES DE BETA-HIDROXIBUTIRATO (BHB)	51
4.4 CONCENTRAÇÕES DE BETA-HIDROXIBUTIRATO (BHB).....	52
4.5 INCIDÊNCIA DE DOENÇAS.....	54
4.6 ANÁLISES BIOQUÍMICAS.....	56
5 CONCLUSÃO	56
6 REFERÊNCIAS	57

1 INTRODUÇÃO

Doenças metabólicas são comuns em vacas leiteiras devido a um período de balanço energético negativo que ocorre no início da lactação em quase todos os animais. A lactação possui uma alta prioridade para o metabolismo, ao ponto em que as reservas corporais são utilizadas para dar suporte à lactação. Adaptações metabólicas ocorrem em muitos animais para apoiar a lactação sem doença subsequente, indicando um processo de homeorrese bem-sucedido. No entanto, em alguns animais, essas adaptações são insuficientes e doenças metabólicas clínicas e subclínicas podem prejudicar o desempenho de vacas acometidas nos primeiros dias após o parto. A produção de corpos cetônicos faz parte das mudanças que permitem que a lactação prossiga e suporte níveis mais altos de produção. Contudo, níveis demasiadamente altos de corpos cetônicos aumentam o risco de deslocamento do abomaso e estão associados com pior desempenho reprodutivo e menor produção leiteira. Todos esses resultados podem levar a um comprometimento do bem-estar animal e perdas econômicas para o produtor.

Nesse período ocorre um aumento da demanda por cálcio para a síntese de colostro e leite. Este acréscimo representa 7 a 10 vezes a quantidade estimada de cálcio total (tCa) no sangue, o que induz uma queda súbita na concentração sanguínea do Ca. Assim, algumas vacas desenvolvem hipocalcemia clínica (HC) ou subclínica (MARTINEZ et al., 2016). Esse desequilíbrio metabólico é mais comum em vacas de 2 ou mais partos, sendo o nadir de Ca entre 12 e 24 h.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PERÍODO DE TRANSIÇÃO EM VACAS LEITEIRAS

O período de transição, compreendido entre as três últimas semanas de gestação e as três primeiras de lactação é considerado o momento mais crítico do ciclo produtivo de vacas leiteiras, devido às diversas transformações sofridas pelo animal. No início da lactação ocorrem diversas alterações anatômicas, fisiológicas, hormonais e metabólicas que preparam a vaca para o parto e para a futura lactação (GOFF e HORST, 1997; DRACKLEY, 1999;). Nesta fase, o consumo alimentar costuma não atender as demandas energéticas de manutenção e produção (GOFF e HORST, 1997; GARRET, 2003).

O período de transição de vacas leiteiras é um período crítico e determinante da saúde e do desempenho delas ao longo de toda a lactação (GRUMMER, 1995). Neste período, ocorrem várias alterações anatômicas, como o aumento do conteúdo uterino e a redução do espaço da cavidade abdominal, assim como, alterações fisiológicas provocadas principalmente pelas variações hormonais. Estas mudanças determinam queda no consumo alimentar que, aliada ao aumento na demanda nutricional, favorecem a ocorrência de distúrbios metabólicos que, por sua vez, impactam negativamente no desempenho zootécnico e financeiro das fazendas leiteiras.

Nesse período, o metabolismo de lipídeos, carboidratos e proteínas é modificado para suprir as exigências do animal (ALVES, 2009). Os requerimentos energéticos e proteicos do feto que crescem exponencialmente no terço final da gestação aumentam a demanda nutricional (WATHES et al., 2007). O início da produção, com a formação do colostro e o aumento repentino na produção de leite, acentuam a demanda nutricional da vaca, que pode consumir cerca de 97% e 83% do consumo total de energia líquida e proteína metabolizável, respectivamente (GOFF e HORST, 1997), e 80% do suprimento de glicose (LAGO et al., 2004).

No período de transição também ocorrem grandes oscilações nas concentrações dos hormônios. A insulina diminui no final da gestação e apresenta um pico no momento do parto, reduzindo novamente na sequência (KUNZ e RUDE, 1985). Esta oscilação é fisiológica e permite a mobilização de tecidos corporais, adiposos, como alternativa ao uso de glicose no início da lactação. Além disso, neste período pós-parto imediato, alguns tecidos corporais são resistentes à ação da insulina (CHAGAS et al., 2009; STUDER et al., 1993).

A somatotropina é um hormônio que aumenta rapidamente entre o final da gestação e início da lactação (BLOCK, 2010) alcançando seu pico no dia do parto (CHEW et al., 1984; GRUMMER, 1995; WATHES et al., 2007).

Os níveis plasmáticos de estrógeno aumentam durante a fase final da gestação e decrescem imediatamente antes da parição. Um dos motivos da redução do consumo de matéria seca (MS) no pós-parto é associado à queda brusca de estrógeno. A presença da progesterona durante a gestação está relacionada com a diminuição da imunidade da fêmea, favorecendo o aparecimento de doenças no pós-parto (DRACKLEY, 2005).

Esse desequilíbrio no organismo promove a ocorrência de doenças e distúrbios metabólicos os quais ficam centrados desproporcionalmente em um período

curto (DRACKLEY, 1999). Enfermidades no pós-parto causam enormes prejuízos econômicos devido à provável redução no pico de produção de leite, gastos com medicamentos, descarte do leite, atraso na reconcepção e muitas vezes descarte involuntário.

Muitas dessas desordens do metabolismo no período de transição podem ser diagnosticadas pelas concentrações de metabólitos sanguíneos (GONZÁLEZ, 2003; WITTEWER, 2000). Lukas *et al* (2015) destacaram a importância da coleta regular de informações no pós-parto. Assim, dar a devida atenção a esta fase é fundamental para alcançar saúde e produtividade das vacas durante a lactação, possibilitando maior rentabilidade na atividade leiteira.

2.2 METABOLISMO DO CÁLCIO E HIPOCALCEMIA

No início da lactação, a exigência de Ca aumenta subitamente, principalmente pela demanda da glândula mamária dando suporte à produção de leite. Algumas vacas são incapazes de atender com sucesso essa necessidade mineral e, conseqüentemente, desenvolvem hipocalcemia. Considerando que a hipocalcemia clínica (HCC) ou febre do leite afeta até 5% das vacas leiteiras no pós-parto (GOFF, 2008), a hipocalcemia subclínica (HCS) afeta aproximadamente 47% das vacas múltíparas e 25% das vacas primíparas em fazendas leiteiras norte-americanas (REINHARDT *et al.*, 2011). Esse número em rebanhos brasileiros é de 65% de HCS (CARNEIRO *et al.*, 2015).

O cálcio é um mineral essencial nas transmissões nervosas, contrações musculares, fatores de coagulação, osteogênese e participa na regulação da ação de vários hormônios como segundo mensageiro. A concentração de Ca total no estado normocalcêmico em vacas leiteiras adultas, oscila entre 8,5 e 10,0 mg/dL, ou seja, entre 2,25 a 2,50 mM. O Ca ionizado, o qual efetivamente é utilizado pelo organismo para suas funções no metabolismo (forma biologicamente ativa) representa cerca de 48 a 52% do Ca total.

Por exemplo, em uma vaca leiteira pesando 600 kg PV há aproximadamente 7,8 a 8,5 kg de Ca no esqueleto, 8,0 a 9,0 g de Ca nos fluídos extracelulares, mas apenas 3,0 a 3,5 g de Ca ionizável prontamente disponível no plasma. O colostro contém 1,7-2,3 g de Ca por kg e o leite contém 1,1 g de Ca por kg. Em vacas lactantes de alta produção, 30 a 50 g de Ca são excretados no leite todos os dias.

A HCC é definida quando a concentração total de cálcio no sangue está abaixo de 6,0 mg/dL, aliada à presença de sinais clínicos, como tremores, prostração e febre.

A prevalência da HCC é geralmente baixa, mas eleva-se à medida que a idade das vacas aumenta e é tipicamente mais alta na raça Jersey, pois apresenta menor eficiência na absorção intestinal do cálcio. Reinhard et al. (2011) verificaram a incidência de 1% de HC para a primeira lactação, 4% para a segunda e entre 6 e 13% a partir da terceira lactação.

A HCS é definida quando a concentração total de cálcio no plasma está abaixo de 8,6 mg/dL, sem apresentação dos sinais clínicos (MARTINEZ et al., 2012). A importância da HCS é geralmente subestimada já que não se observam sinais clínicos evidentes, no entanto, esta condição é altamente prevalente durante os primeiros dias após o parto. O uso de dietas com alta proporção de ânions fortes é eficaz na prevenção da HCC. No entanto, a prevalência de HSC continua a ser alta e mais estudos são necessários para entender os fatores envolvidos na sua ocorrência.

Vacas que apresentam HCC ou HCS contribuem negativamente com a produtividade do rebanho, pois resultam em importantes perdas econômicas aos produtores de leite e são mais susceptíveis ao desenvolvimento de outras desordens de periparto, tais como distocia, cetose, deslocamento de abomaso, prolapso uterino e retenção de placenta. Além disso, vacas que apresentam HCS são mais suscetíveis a desenvolver doença uterina associada à diminuição do Ca sanguíneo nos primeiros três dias pós-parto. Vacas com HCS apresentam ainda maiores prevalências de mastite clínica no pós-parto do que vacas com concentrações normais de Ca (MARTINEZ et al., 2012).

Vacas normocalcêmicas apresentam maior taxa de prenhez em comparação a vacas com HCS (MARTINEZ et al., 2012). Os trabalhos desenvolvidos com esse tema ajudam a explicar como a HCS contribui para o desenvolvimento de doenças durante o período pós-parto em vacas leiteiras. Mais estudos são necessários para o estabelecimento de programas de nutrição preventivos bem sucedidos, monitoramento da saúde do rebanho e para a determinação de estratégias de manejo alimentar capazes de manter a homeostase do Ca durante o período de transição em vacas leiteiras.

A concentração de cálcio sérico no organismo é mantida por meio da regulação endócrina do paratormônio (PTH), da calcitonina (CT) e da forma ativa da vitamina D. As concentrações de Ca no organismo são controladas tanto pelas células chamadas principais da paratireoide, quanto pelas células C ou parafoliculares da glândula tireoide, que são estimuladas pelas concentrações de Ca ionizável no sangue (SANTOS, 2006). Esses receptores na membrana celular de suas respectivas células são capazes de perceber a concentração de Ca ionizável no sangue e assim, quando

necessário, ativar os mecanismos de síntese de PTH ou calcitonina. Quando há decréscimo de Ca plasmático, a paratireóide é estimulada a secretar o PTH. Este hormônio ativa a enzima renal 1α -hidroxilase, a qual catalisa a transformação de 25-hidroxi-colecalciferol em $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$, metabólito muito mais potente que o anterior.

Após a ativação, essa vitamina promove o aumento da síntese de RNA mensageiro, estimulando a produção de proteína carreadora de cálcio junto aos enterócitos (RUDE, 1998). Essa proteína carreadora é responsável pela absorção de Ca, a qual ocorre principalmente no intestino delgado do trato digestório de ruminantes, apesar de também ocorrer alguma absorção no rúmen, no ceco e no cólon. A queda do pH na passagem pelo abomaso e início do duodeno faz com que o Ca saponificado no rúmen e retículo seja liberado, passando para a forma de Ca ionizável, disponível para a absorção intestinal (SANTOS, 2009).

Fatores como concentração na dieta, fonte e biodisponibilidade de cálcio, pH intestinal (sendo facilitada por baixo pH), presença de ácidos orgânicos (lático, fítico e cítrico), concentrações séricas de cálcio e fósforo, presença de certos minerais (ferro, alumínio, magnésio, manganês), que em excesso induzem a formação de fosfatos insolúveis diminuindo a absorção, gordura da dieta (baixos níveis melhoram a absorção) e concentrações de vitamina D sérica e da dieta podem alterar a quantidade absorvida de cálcio (LUCA et al., 1972).

O aumento e estabilização na concentração de Ca ionizável no sangue ocorre pela inibição na síntese de PTH. A elevação na concentração de Ca ionizável é percebida pelos receptores das células parafoliculares da tireóide, as quais sintetizam e liberam calcitonina. Esta, por sua vez, inibe diretamente a ação dos osteoclastos na reabsorção óssea e aumenta a excreção renal de Ca, o que reduz o influxo de Ca do tecido ósseo, aumenta a perda de Ca na urina e restabelece as concentrações sanguíneas, evitando assim, a hipercalcemia (SANTOS, 2009).

O PTH tem influência direta sobre os rins, sendo este um dos primeiros processos a ser ativado (CANTAROW e SHEPANTZ, 1999). Um aumento na concentração de PTH leva a maior excreção de fosfato, diminuindo sua concentração plasmática, acarretando aumento da relação cálcio:fósforo. Nos túbulos contorcidos proximais do rim há inibição da reabsorção de fosfato e nos túbulos contorcidos distais e ductos coletores há aumento na reabsorção de cálcio. Cerca de 90% do cálcio filtrado no glomérulo renal é reabsorvido nos túbulos renais proximais, nas alças de Henle e nos túbulos distais iniciais. O restante pode ser reabsorvido nos ductos coletores de forma seletiva e dependente da concentração de cálcio sérico. Em casos de hipocalcemia, ocorre grande reabsorção de cálcio nos ductos coletores, diminuindo

a excreção de cálcio via urina.

A forma ativa da vitamina D, 1,25 (OH)₂D₃ ou calcitriol, desempenha um papel importante no metabolismo mineral e foi relatado estar envolvida com a função imune inata (LIU et al, 2006).

A síntese de 1,25(OH)₂D₃ começa na pele dos animais sob exposição da radiação de luz B ultravioleta, o que cliva o anel B de 7-desidrocolesterol, um precursor de colesterol, entre C₉ e C₁₀ para formar pré-vitamina D₃. A isomerização de pré-vitamina D₃ em vitamina D₃ ocorre na pele por meio de uma reação dependente da temperatura. A vitamina D₃ pode também ser obtida a partir de fontes alimentares de origem animal e é absorvida no intestino delgado. Em fungos e protozoários, a radiação de luz ultravioleta B pode formar um composto semelhante, a vitamina D₂, por meio da mesma reação fotoquímica, com a única diferença de que, neste caso, o substrato é o ergosterol em vez de 7-desidrocolesterol. Em contraste com a vitamina D₂, a vitamina D₃ é mais eficientemente convertida em 1,25 (OH)₂ D₃. No entanto, ambas as formas podem se tornar ativas por meio da adição de dois grupos hidroxila, com o primeiro a ter lugar no fígado e o segundo no rim.

A vitamina D₃ produzida na pele é liberada na corrente sanguínea onde se liga à proteína de ligação da vitamina D e é transportada para o fígado. Através do metabolismo hepático, a 25-hidroxilase adiciona um grupo hidroxila C₂₅ da vitamina D₃ para formar 25 (OH) D₃. Este, também conhecido como calcidiol, é liberado na corrente sanguínea e se liga à proteína de ligação da vitamina D e representa a principal forma circulante de vitamina D₃ presente no plasma de vacas normais. Eventualmente, a 25(OH)D₃ é transportada para dentro da mitocôndria do rim, onde a hidroxilação de C₁ ocorre, resultando na forma bioativa 1,25 (OH)₂ D₃.

Um fator importante que prejudica a homeostase do Ca em vacas é a alcalose metabólica, pois predispõe ao desenvolvimento de HCC e HCS (CRAIGE e STOLL, 1947). A alcalose metabólica diminui a capacidade de resposta dos tecidos ao hormônio da paratireóide (PTH), resultando em diminuição da produção de 1,25 (OH)₂D₃ e, conseqüentemente, prejudica a homeostase do Ca. Além disso, a alcalose metabólica durante o período de periparto é conhecida por estar associada às dietas contendo mais cátions do que ânions fortes, resultando no aumento da retenção de HCO₃. Sob alcalose, a secreção de PTH é reduzida, sendo essa atividade importante para manter o equilíbrio do Ca durante a produção de colostro no início da lactação.

Vacas alimentadas com dietas de baixas concentrações de potássio (K) durante as últimas semanas de gestação apresentam aumento nas concentrações

plasmáticas de cálcio total após o parto. Aparentemente, as dietas com alto K podem aumentar a concentração de fosfato no sangue, inibindo a 1- α -hidroxilase no rim. O resultado final é a redução potencial na síntese de 1,25 (OH) $_2$ D $_3$, que pode prejudicar a homeostase do Ca.

A idade das vacas é um fator predisponente importante para HCC. Com a idade, as vacas apresentam maior risco para HCC e HCS. Reinhardt et al. (2011) verificaram prevalência de HC de 1% para primíparas e 4, 6, 10, 8 e 13% para a segunda, terceira, quarta, quinta e sexta lactações, respectivamente. O aumento do risco para as vacas mais velhas provavelmente está associado com o aumento no volume de produção de colostro no primeiro dia pós-parto. Outra razão é que ocorre a redução na capacidade de remodelagem óssea do Ca, por apresentar menor atividade osteoclástica ou porque ocorre diminuição na quantidade de receptores de 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ no intestino delgado das vacas mais velhas (HORST et al., 1997).

Quanto à raça, observa-se que vacas Jersey apresentam maior incidência da doença, em parte pela maior concentração de Ca no colostro, mas principalmente por possuírem menos receptores para vitamina D $_3$ nas células intestinais que vacas da raça Holandesa (SANTOS, 2009).

Para Horst et al. (1997) a constatação da importância do teor de K da dieta fez com que fossem realizadas inúmeras pesquisas com uso de ânions dietéticos em dietas para vacas no pré-parto. Esse conhecimento expandiu a compreensão da patogênese da hipocalcemia e chamou a atenção para a investigação destinada a estudar métodos para neutralizar os efeitos negativos do excesso de K, principalmente das forragens, na incidência da hipocalcemia.

Segundo o NRC (2001), apesar de qualquer mineral com carga positiva ou negativa poder afetar o balanço cátion-aniônico, utilizam-se aqueles que apresentam maior taxa de absorção no trato digestivo e maior concentração de cargas em miliequivalentes. Dentre eles, S $^-$ e Cl $^-$ são os principais ânions e Na $^+$ e K $^+$ são os principais cátions. O sódio, cloro e potássio são absorvidos com mais de 90% de eficiência, enquanto que o enxofre chega a 60%. Outros minerais como cálcio, magnésio e fósforo também podem influenciar o balanço cátion-aniônico, mas devido a menor taxa de absorção desses elementos, eles geralmente não são considerados nas equações para cálculo do balanço cátion-aniônico da dieta. Goff e Horst (1997) constataram que a redução no K da dieta para 1,1% da MS foi suficiente para prevenir a hipocalcemia clínica em vacas múltiparas Jersey. No entanto, não houve redução da incidência de hipocalcemia subclínica.

Lean et al. (2006) descreveram algumas equações utilizadas para estimar o balanço cátion- dietas no pré-parto, porém a equação aniônico das DCAD = $[(Na^+ + K^+) - (Cl^- + S^{2-})]$ é a mais indicada.

Para o NRC (2001) deve-se procurar o ajuste da diferença cátion-aniônica da dieta (DCAD) para prevenir a alcalose e induzir a acidose metabólica compensada. Grande parte dos alimentos usuais são catiônicos, farelo de soja e pastagens por exemplo, devendo-se evitá-los ou restringí-los no período pré-parto, em especial aqueles com mais de +400 mEq/kg de MS (ORTOLANI, 1995).

A DCAD ideal para vacas no pré-parto parece ser entre 0 e -10 mEq/100 g de MS (SANCHEZ, 1999) e -10 a -15 mEq/100 g (OVERTON e WALDRON, 2004). Moore et al. (2000) relataram que, embora a inclusão de sais aniônicos na dieta de primíparas no pré-parto tenha induzido a acidose metabólica, não houve incremento no metabolismo do cálcio e os animais apresentaram queda na ingestão de MS, aumento nas concentrações de ácidos graxos não esterificados (AGNE) e acúmulo de triglicerídeos no fígado.

Em algumas situações torna-se difícil a escolha de forragem com DCAD baixa, para utilizar especificamente no período de pré-parto. Dessa forma, recomenda-se que em rebanhos com incidência superior a 1% de hipocalcemia clínica, que sejam oferecidos sais ricos em ânions tais como sulfato de cálcio, cloreto de amônia, sulfato de magnésio, sulfato de amônia e cloreto de cálcio. Estes sais diminuem levemente o pH sanguíneo, acidificando também o pH urinário. Esses sais são pouco palatáveis e, se utilizados em grande quantidade na dieta, podem diminuir o consumo de alimentos que aumentam o risco de surgimento de fígado gorduroso e cetose no pós-parto (ORTOLANI, 2002).

Em experimento com dietas de transição para vacas da raça Holandesa contendo 50 a 90 gramas de cálcio por dia, com DCAD positivo e sem adição de sal aniônico, Oetzel et al. (1988) verificaram 51% de vacas com hipocalcemia subclínica, 10% com hipocalcemia clínica e 39% normais. Com a adição de sais aniônicos às dietas, 20% estavam com hipocalcemia subclínica, 4% hipocalcemia clínica e 76% estavam normais. O excesso de fertilização nas pastagens pode resultar em aumento da ingestão de K pelas vacas. Uma maneira de limitar a ingestão desse elemento é alimentar os animais com gramíneas, consideradas plantas com baixos níveis de K em relação às leguminosas (HORST et al., 1997).

A utilização de calcitriol, também conhecido como 1,25-di-hidroxitamina D3 [1,25 (OH)2D3] foi avaliada como um método para melhorar o metabolismo do Ca. A

1,25 (OH)₂D₃ induz o aumento do Ca sanguíneo dentro de horas após o tratamento, com isso, as vacas devem ser tratadas imediatamente após o parto, e se possível, doze horas antes do parto. Há falta de informações detalhadas sobre o uso de 1,25 (OH)₂D₃ imediatamente antes ou após o parto e as implicações subsequentes para o metabolismo mineral do Ca e desempenho produtivo e reprodutivo de vacas leiteiras.

Postula-se que uma formulação injetável de liberação lenta de 1,25 (OH)₂D₃ sustentaria as concentrações sanguíneas de íons Ca e da concentração total de Ca, melhorando a função imune em vacas no início da lactação. Os efeitos da 1,25 (OH)₂D₃ na remodelagem dos ossos, reabsorção renal e de absorção intestinal de cálcio e fosfato são bem estabelecidos. Assim, o fornecimento imediatamente após o parto de uma fonte exógena da vitamina D ativa contribuiria para ajudar as vacas leiteiras, tanto primíparas quanto múltiparas, a suprir as necessidades súbitas de Ca pela glândula mamária no início da lactação e diminuindo, dessa maneira, a ocorrência de HCS (VIEIRA-NETO et al., 2017). Essa proposta de tratamento de prevenção não exclui as formas já existentes e funcionais de prevenção para a hipocalcemia, tais como dietas aniônicas no período pré-parto. Porém, mesmo vacas tratadas com dietas muito bem formuladas, capazes de prevenir a HCC, podem apresentar HCS. Portanto, a proposta de usar o calcitriol é de somar resultados junto aos que já estão bem estabelecidos na prevenção dessa desordem metabólica, e dessa forma, diminuir a ocorrência de HCS (VIEIRA-NETO et al., 2017).

2.3 USO DE CÁLCIO ORAL COMO PREVENÇÃO DA HIPOCALCEMIA SUBCLÍNICA

A implementação de dietas acidogênicas no pré-parto, dietas de pré-parto com concentrações de K baixas ou limitadas e suplementação de vitamina D reduziram a incidência de hipocalcemia clínica, porém a prevalência de HCS permanece alta (REINHARDT et al., 2011). Por isso, alternativas que complementam o uso de alimentação pré-parto de sais acidogênicos ou outros métodos de prevenção são necessárias para minimizar ainda mais os problemas associados à HCS. A suplementação com Ca oral no pós-parto imediato foi implementada originalmente para prevenir a hipocalcemia clínica. Fornecer uma fonte altamente solúvel de Ca oral induz altas concentrações de Ca ionizável. Assim, as altas concentrações de iCa no lume ruminal induzem um gradiente químico que transporta passivamente iCa da mucosa, aumentando as concentrações de iCa no sangue (BRONNER, 1987).

Na administração de Ca oral concluiu-se que o cloreto de cálcio proporcionou rápido aumento do iCa no sangue para a prevenção da hipocalcemia clínica (GOFF e HORST, 1993). Suplementação oral de Ca em dose única altera a composição mineral do sangue e o status ácido-base. Resultados mostram que a suplementação aumenta as concentrações sanguíneas totais e iCa de maneira dose-dependente (MARTINEZ et al., 2016).

Suplementação oral de cálcio como cloreto de cálcio e sulfato de cálcio aumentam as concentrações de iCa no sangue, mas o aumento de iCa e tCa duram menos de 8h (MARTINEZ et al., 2016). A suplementação Ca oral para as vacas reduz a incidência e a prevalência de HCS, e essas reduções são maiores quando o tratamento é estendido para 4 dias pós-parto. Segundo Martinez et al. (2016), vacas multíparas suplementadas com Ca oral apresentam redução na incidência de outras doenças além da metrite e cetose. A utilização para suplementação de Ca oral deve ser evitada em vacas primíparas, visando apenas populações com alto risco de desenvolver hipocalcemia.

Cloreto de cálcio tem sido bem estabelecido para eficácia, mas trabalhos recentes demonstraram que cloreto de cálcio em formulação aquosa em gel é altamente tóxico para a mucosa gastrintestinal (FURLL et al., 1998; JORGENSEN et al., 1990; WENTINK e VAN DEN INGH, 1992). Outros sais têm sido utilizados para esse fim com poucos dados publicados sobre segurança em bovinos. O formiato de cálcio é um sal de Ca o qual o comerciante alega não ter efeito irritante sobre a mucosa gastrointestinal. O formiato de cálcio possui a fórmula $\text{Ca}(\text{HCOO})_2$ e é obtido durante a produção de poli álcoois de ácido fórmico e hidróxido de cálcio. (CARNEIRO *et al.*, 2018).

Segundo McIntyre e Weston (2002), a administração oral de formiato de cálcio (350 mL de uma suspensão aquosa a 48,6%), quatro vezes em intervalos de aproximadamente 12 horas, resulta em aumento na concentração de tCa e não causa úlceras de abomaso, comparado aos tratamentos com cloreto de cálcio na mesma dose e intensidade.

2.4 BALANÇO ENERGÉTICO NEGATIVO

A ingestão de nutrientes no início da lactação não atende as demandas energéticas de manutenção e produção, e com isso, o surgimento de um balanço energético negativo (BEN) força o animal a mobilizar reservas corporais, reduzindo a condição corporal e elevando os níveis sanguíneos de ácidos graxos não esterificados

(AGNE) oriundos da lipólise do tecido adiposo (CHILLIARD et al. 1983; CALDEIRA 2005). Em excesso, o AGNE excede a capacidade hepática de β -oxidação resultando na formação de corpos cetônicos (CC), representados pelo acetoacetato, β -hidroxibutirato (BHBA) e acetona (CHURCH, 1993; DRACKLEY et al., 2001). Níveis elevados de CC no sangue causam transtornos metabólicos e distúrbios cerebrais (GONZÁLEZ e CAMPOS, 2003; GULAY et al., 2004), além de prejudicarem a eficiência reprodutiva por coincidirem com o período em que deve ocorrer o retorno à ciclicidade e a nova concepção, aumentando o intervalo parto-concepção (BAUMAN et al., 1993).

A produção de corpos cetônicos faz parte das mudanças fisiológicas que permitem que a lactação prossiga, como também, dá suporte ao maior incremento na produção de leite (HERDT, 2000). No entanto, os níveis patológicos de corpos cetônicos estão associados a um aumento do risco de deslocamento do abomaso, pior desempenho reprodutivo e diminuição da produção de leite (MCART et al., 2012). Todos esses resultados podem levar à diminuição do bem-estar animal e as perdas econômicas do produtor.

Segundo Bell (1995) vacas Holandesas no 4º dia pós-parto com produção média de 29,6 kg/dia podem ter uma exigência de 2,7x maior de glicose, quando comparadas com vacas secas aos 250 dias de gestação. O fato das vacas no pós-parto serem expostas a intensas alterações hormonais, implica na mudança metabólica nesse período. Como exemplo, a associação da alta concentração plasmática de somatotropina e baixa de insulina colabora para aumentar a capacidade de lipólise e de gliconeogênese hepática, favorecendo a mobilização da gordura corporal e também a utilização de aminoácidos (RABELO e CAMPOS, 2009). O glucagon, os glicocorticoides e a prolactina têm um pico no dia do parto, sendo que os dois primeiros estimulam a lipomobilização e a utilização do glicogênio hepático, promovendo um pico de glicose circulante, que cai imediatamente após o parto (EDGERTON e HAFS, 1973; GRUMMER, 1995; RASTANI et al., 2005). Essa queda brusca da concentração de glicose associada a altos níveis de requerimento energético para manutenção e lactação, força a vaca a buscar alternativas para suprimento energético.

A glicose é necessária para a produção de leite e é uma parte importante dos mecanismos endócrinos que controlam o metabolismo no início da lactação. Os corpos cetônicos no sangue e a glicose geralmente têm uma relação inversa, uma vez que baixas concentrações de glicose no sangue estimulam a degradação da gordura e a produção de corpos cetônicos. Porém, algumas vacas com níveis elevados de

corpos cetônicos no sangue podem ter glicose normal ou alta.

2.5 SUPLEMENTAÇÃO DE BUTAFOSFANA E CIANOCOBALAMINA

Uma combinação de butafosfana mais cianocobalamina tem sido estudada para prevenção de cetose e um acréscimo no potencial do metabolismo energético de vacas leiteiras no período pós-parto (LOHR et al., 2006; FÜRLL et al., 2010). A cianocobalamina é uma forma de vitamina B12 que demonstrou ser deficiente nas vacas no momento do parto. A suplementação de vitamina B12, cuja hipótese é aumentar a gliconeogênese melhorando a atividade da metilmalonil-CoA mutase, uma enzima dependente da vitamina B12, importante componente do ciclo de Krebs (KENNEDY et al., 1990).

A vitamina B12 suplementada alterou o estado de energia das vacas dentro das primeiras cinco semanas de lactação. Esta conclusão é apoiada por uma concentração plasmática de AGNE mais baixa e maiores concentrações plasmáticas de glicose, insulina e redução das perdas de ECC para vacas que receberam o suplemento de vitamina B12 (DUPLESSIS et al., 2017).

A butafosfana, uma fonte orgânica de fósforo, também pode estimular a gliconeogênese por fosforilação de compostos intermediários no processo (ATP e ADP) (ROLLIN et al., 2010). No entanto, não está claro se esta forma de fósforo é biologicamente disponível para o animal. O uso deste produto combinado mostrou aumentar a ruminação em vacas após a correção cirúrgica de abomaso deslocado para a esquerda (LOHR et al., 2006) e aumentou a cura da cetose, melhorando a produção de leite em vacas multíparas (GORDON et al., 2012). A suplementação de butafosfana e cianocobalamina em vacas leiteiras no pós-parto, mostrou resultados no acréscimo de produção de leite, comparando com vacas que não foram tratadas com a essa suplementação (PEREIRA et al., 2013).

Segundo Gordon et al. (2017), o tratamento de propilenoglicol, butafosfana e cianocobalamina pode aumentar a produção de leite no início da lactação em animais com baixa glicose no sangue no momento do diagnóstico de cetose. A glicose sanguínea pode ser um importante medidor da eficácia do tratamento para a cetose (GORDON et al., 2017).

3 REFERÊNCIAS

ALVES, N. G.; PEREIRA, M. N.; COELHO, R. M. Nutrição e reprodução em vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.6, p.118-124. 2009.

BAUMAN, D.E., VERNON, R. G. Effects of exogenous bovine somatotropin on lactation. **Journal of Dairy Science**. v.13, p. 437, 1993.

BELL, A. W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **Journal of Animal Science**, v.73, p.2804-2819. 1995.

BLOCK, E. Transition cow research – What makes sense today? **High Plains Dairy Conference 75**, Amarillo, Texas. 2010.

BRONNER, F. Intestinal calcium absorption: mechanisms and applications. **The Journal of nutrition**, v. 117, n. 8, p. 1347-1352, 1987.

CALDEIRA, R. M. Monitorização da adequação do plano alimentar e do estado nutricional em ovelhas. **Revista Portuguesa de Clinicas VeterináriaS**, v. 100, p. 125-139, 2005.

CHURCH, C.D. El ruminante: fisiología digestiva y nutrición. Editorial Acribia: Zaragoza, 645 p. 1993.

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

DRACKLEY, J. K.; DANN, H. M.; DOUGLAS, G. N. Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. **Italian Journal of Animal Science**, v.4, p.323-344, 2005.

DUFFIELD, T. F., LEBLANC, S. J. Interpretation of serum metabolic parameters around the transition period. In: **Southwest Nutrition and Management Conference**, 24, Arizona, p.106-114, 2009.

CANTAROW, A.; SHEPARTZ. Bioquímica. 4 ed. Rio de Janeiro: Atheneu, p. 675-684, 1968.

CALDEIRA R. M. Monitorização da adequação do plano alimentar e do estado nutricional em ovelhas. **Revista Portuguesa de Clinicas Veterinária**. v.100; p.125-139; 2005.

CHAGAS, L.M.; LUCY, M.C.; BACK, P.J. et al. Insulin resistance in divergent strains

of Holstein-Friesian dairy cows offered fresh pasture and increasing amounts of concentrate in early lactation. **Journal of Dairy Science.**, v.92, p.216- 222, 2009.

CHEW, B.P.; MURDOCK, F.R.; RILEY, R.E.; HILLERS, J.K. influence of prepartum dietary crude protein on growth hormone, insulin, reproduction, and lactation of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.67, p.270-275, 1984.

CHILLIARD, Y.; REMOND, B.; SAUVANT, D.; VERMOREL, M. Particularités du métabolisme énergétique. In: Particularités nutritionnelles des vaches à haut potentiel de production. **Bull. Tech. CRZV**, v.53, p.37-64, 1983.

CRAIGE, A. H.; I. V. STOLL. Milk fever (parturient paresis) as a manifestation of alkalosis. **Am. J. Vet. Res**, v. 8, p. 168-173, 1947.

DRACKLEY, J. K.; DANN, H. M.; DOUGLAS, G. N. Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. Italian **Journal of Animal Science**, v. 4, p. 323-344, 2005.

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

DUPLESSIS, M.; LAPIERRE, H.; PELLERIN, D.; LAFOREST, J.-P.; GIRARD, C. L. Effects of intramuscular injections of folic acid, vitamin B12, or both, on lactational performance and energy status of multiparous dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 4051-4064, 2017.

EDGERTON, L. A.; HAFS, I. I. D. Serum luteinizing hormone, prolactin, glucocorticoid, and progestagens in dairy cows from calving to gestation. **Journal of Dairy Science**, v.56, p.451-458, 1973.

FURLL, M.; OETZEL, R.; SCHOON, H. A. The influence of various calcium chloride formulations on blood calcium levels and calcium excretion in the urine, as well as the tolerance of cows to the formulations. **Proceedings of XX World Buiatric Conference**, Sydney, 143- 146, 1998.

FÜRLL, M.; DENIZ, A.; WESTPHAL, B.; ILLING, C.; CONSTABLE, P. D. Effect of multiple intravenous injections of butaphosphan and cyanocobalamin on the metabolism of periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 4155-64, 2010.

GARRETT, O.R. Ketosis and Hepatic Lipidosis in Dairy Herds. **Preconvention Seminar 7: Dairy Herd Problem Investigation Strategies**.36th Annual Conference, September . Columbus, OH. p15-17, 2003.

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. **Journal of Animal Science**,

v. 80, p.176-186, 1997.

GONZÁLEZ, F. H. D.; CAMPOS, R. Indicadores metabólico-nutricionais do leite. Anais I Simpósio de Patologia Clínica da Veterinária da Região Sul do Brasil. Porto Alegre: **Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul**. p. 31-47, 2003.

GORDON, J.L.; LEBLANC, S.J.; KELTON, D.F.; HERDT, T.H.; et al. Randomized clinical field trial on the effects of butaphosphancyanocobalamin and propylene glycol on ketosis resolution and milk production. **Journal of Animal Science**, v. 100, p.176-186, 2017.

GRUMMER, R. R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 2820-2833, 1995.

GULAY, M. S.; HAYEN, M. J.; LIBONI, M. et al. Low doses of bovine somatotropin during the transition period and early lactation improves milk yield, efficiency of production, and other physiological responses of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 9, p. 948- 960, 2004.

GUYTON, A.C.; HALL, J. E. Fisiologia Médica. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 841-851. 2002.

HORST et al. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, 2005.

JONES, T. C.; HUNT, R.D.; KING, N. W. Patologia Veterinária. 6 ed. São Paulo:Manole. p. 813-815. 2000.

JORGENSEN RJ, BASSE A and ASLAN V. Sequelae to oral calcium chloride gel dosing of cows. Proceedings of XVI World Buiatric Congress, Brazil, 511, 1990.

KENNEDY' D.G, CANNAVAN', A. MOLLOY⁴, F. O' HARTE', S. M. TAYLOR², S. K. A. W. J. B. Deficient Sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 64, p. 121-132, 1990.

KUNZ, A. B. R.; RUDE, E. Insulin-specific T cell hybridomas derived from (H-2b × H-2k)F1 mice preferably employ F1unique restriction elements for antigen recognition. **European Journal of Immunology**, v.15, p.1048–1054, 1985.

LAGO, E. P.; PIRES, A. V.; SUSIN I.; FARIAS V. P.; LAGO L. A. Efeito da condição corporal ao parto sobre alguns parâmetros do metabolismo energético, produção de leite e incidência de doenças no pós-parto de vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p.1544-1549. 2004.

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

LEBLANC, S. J.; LESLIE, K. E.; DUFFIELD, T. F. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 159-170, 2005.

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

LIU, P. T., S. STENGER, H. LI, L. WENZEL, B. H. TAN, S. R. KRUTZIK, M. T. OCHOA, J. SCHAUBER, K. WU, C. MEINKEN, D. L. KAMEN, M. WAGNER, R. BALS, A. STEINMEYER, U. ZÜGEL, R. L. GALLO, D. EISENBERG, M. HEWISON, B. W. HOLLIS, J. S. ADAMS, B. R. BLOOM, R. L. MODLIN. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. **Science** 311:1770-1773. 2006.

LUCA, H.F.; MELANCON, M.J. 25-Hydrocholecalciferol: a hormonal form of vitamin D in biochemical actions of hormones. New York: Academic Press, p. 337-379. 1972.

LUKAS, J. M. et al. A study of methods for evaluating the success of the transition period in early-lactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.250-262, 2015.

LOHR B, BRUNNER B, JANOWITZ H, HUMMEL M, SEEGER T, WEBER I, WITTEK T, SCHMIDT B, HELLMANN K: Efficacy of Catosal® for the treatment of ketosis in cows with left abomasal displacement. **Tierärztl Umschau**; 61 (4): 187 – 190; 2006.

MCART, J.A.A., NYDAM, D.V., OETZEL, G.R. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.5056-5066, 2012.

MARTINEZ, N.; RISCO, C. A; LIMA, F. S., *et al.* Evaluation of peripartal calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 7158-7172, 2012.

MCINTYRE; S.J. WESTON. An investigation of the safety of oral calcium formate in dairy cows using clinical, biochemical and histopathological parameters. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 50, p. 195-198, 2002.

MOORE, S. J.; VANDEHAAR, M. J.; SHARMA, B. K.; PILBEAM, T. E. Effects of altering dietary cation-anion difference on calcium and energy metabolism in peripartum cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 2095-2104, 2000.

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

OETZEL, G. R. Monitoring and Testing Dairy Herds for Metabolic Disease. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.20, p.651-74. 2004.

ORTOLANI, E. L. Aspectos clínicos, epidemiológicos e terapêuticos da hipocalcemia de vacas leiteiras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 47, p. 799-808, 1995.

ORTOLANI, E.L. Diagnóstico de doenças nutricionais e metabólicas por meio de exame de urina em ruminantes. In: GONZÁLEZ, H.F. et al. (Eds.), 2002.

OSPINA, P. A. et al. Evaluation of nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.546-554, 2010a.

OVERTON, T. R.; WALDRON, M. R. Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 105-119, 2004.

PEREIRA, R. A.; SILVEIRA, P. A. S.; MONTAGNER, P. et al. Effect of butaphosphan and cyanocobalamin on postpartum metabolism and milk production in dairy cows. **Animal**, v. 7, p. 1143-1147, 2013.

RABELO, E.; CAMPOS, B. G. Fisiologia do período de transição. *Ciência Animal Brasileira*, Suplemento I: VII Congresso Brasileiro de Buiatria, **Anais**. 2009.

REINHARDT, T. A., HORST, R. L., GOFF, J. P. Calcium, phosphorus, and magnesium homeostasis in ruminants. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.**, v. 4, p. 331-350, 1988.

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

ROLLIN, E.; BERGHAUS, R. D.; RAPNICKI, P.; GODDEN, S. M.; OVERTON, M. W. The effect of injectable butaphosphan and cyanocobalamin on postpartum serum beta-hydroxybutyrate, calcium, and phosphorus concentrations in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 978-987, 2010.

RUDE, R. K. Magnesium deficiency: a cause of heterogeneous disease in humans. *Journal of Bone and Mineral Research*, Washington, v. 13, p. 749-758, 1998.

RASTANI, R. R. et al. Reducing dry period length to simplify feeding transition cows: milk production, energy balance, and metabolic profiles. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.1004-1014, 2005.

SANTOS, J.E.P. Distúrbios Metabólicos. In: BERCHIELLI, T.T; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. *Nutrição de Ruminantes*. Jaboticabal:Funep, p. 439-461. 2006.

SANTOS, J.E.P.; SANTOS, F.A.P. Novas estratégias no manejo e alimentação de vacas pré-parto. In: 10o SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL. Piracicaba. Anais... Piracicaba. p.165-214. 1998.

SANTOS, J.E.P. **Effect of degree of fatness prepartum on lactational performance and follicular development of early lactating dairy cows**. 107f. Dissertation (Master) - University of Arizona, Tucson, AR. 1996.

SANTOS, J. P. C.; LEA, S.D.C.B.S; MADEIRA, E. M.; SCHWEGLER, E.; PINO, F. A.

B. D.; CORRÊA, I. B. M. N. Balanço Energético Negativo no Período do Periparto em Vacas de Aptidão Leiteira. NUPEEC – **Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária Pelotas**, novembro de 2009.

SMITH, B. L. Toxicity of zinc in ruminants in relation to facial eczema. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 25, p. 310-312, 1977.

SMITH, B. P. **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis, MO: Mosby. 1661p., 2002.

STUDER, V.A. ; GRUMMER, R.R.; BERTICS, S.J & REYNOLDS, C.K. Effect of propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. 76:2931-2339.1993.

VAN SOEST, P.J.; J.B. Robertson; B.A. LEWIS. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3583-3597, 1991.

VIEIRA-NETO, A I.R.P. LIMA, F. LOPES Jr., C. LOPERA, R. ZIMPEL, L.D.P. SINEDINO, K.C. JEONG, K. GALVÃO, W.W. THATCHER, C.D. NELSON, J.E.P. SANTOS. Use of calcitriol to maintain postpartum blood calcium and improve immune function in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Vol. 100, Issue 7, p. 5805–5823. 2017.

WENTINK, G.H; VAN DEN INGH. TSGAM. Oral administration of calcium chloride-containing products: testing for deleterious side effects. **Veterinary Quarterly**, v. 14, p. 76-80, 1992.

WITTEWER, F. Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.O.; OSPINA, H. ET AL. (Eds.) Porto Alegre: Editora da UFRGS, p.9-22. 2000.

WATHES, D. C; FENWICK, M.; CHENG, Z.; BOURNE, N.; LLEWELLYN, S.; MORRIS, D. G.; KENNY, D.; MURPHY, J.; FITZPATRICK, R. Influence of negative energy balance on cyclicity and fertility in the high producing dairy cow. **Theriogenology**, v.68, p.232-241, 2007.

CAPÍTULO I – EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE BUTAFOSFANA MAIS CIANOCOBALAMINA E FORMIATO DE CÁLCIO EM VACAS LEITEIRAS NO PÓS-PARTO

RESUMO

O objetivo do experimento foi avaliar os efeitos da suplementação oral de Ca e butafosfana mais cianocobalamina injetável sobre o metabolismo mineral e energético de vacas leiteiras. Duzentos e oito vacas Holandesas múltiparas foram distribuídas aleatoriamente em um arranjo fatorial 2x2: Controle Negativo (CN=52), que receberam três injeções subcutâneas (SC) de 25 mL de solução salina em 0, 3 e 7 dias em leite (DEL); Cálcio Oral (CO=52), que receberam por via oral duas doses de 350 mL (50 g de Ca) como formiato de Ca em 0 e 1 DEL; butafosfana mais cianocobalamina (BC=52) que receberam três injeções SC de 25 mL de cianocobalamina (0,005 mg/mL) mais butafosfana (0,1 g/mL) em 0, 3 e 7 DEL; e Controle Positivo (CP=52), que receberam formiato de Ca e cianocobalamina mais butafosfana. A produção diária de leite foi analisada durante os primeiros 100 DEL. O leite foi amostrado e analisado nas duas primeiras semanas pós-parto. O sangue foi amostrado com 3, 7 e 14 dias após o parto para analisar β -hidroxibutirato (BHB) e com 0, 12, 24, 36 e 72 h após o parto para analisar o Ca iônico (iCa). Avaliações clínicas dos animais foram realizadas nos dias 1, 3, 7 e 14 para determinar a incidência de doenças. Os dados foram analisados utilizando os procedimentos MIXED e GLIMMIX do SAS. Vacas que receberam CO apresentaram menor ($P<0,01$) produção de leite que as vacas do grupo controle (47,48 vs. 48,41 kg/dia; EPM = 0,22), e as vacas suplementadas com BC apresentaram maior ($P<0,05$) produção do que as não suplementadas (48,34 vs. 47,55 kg/dia; EPM = 0,26), sem interação ($P>0,10$) entre os tratamentos. A composição do leite e as concentrações de BHB não diferiram ($P>0,10$) entre os tratamentos. Concentrações de iCa foram maiores nas 12h ($P=0,08$) e 36h ($P<0,01$) no tratamento com CO e às 36h ($P=0,05$) no tratamento com BC, com interação ($P=0,05$) entre os tratamentos às 36h. A incidência de cetose subclínica foi menor ($P=0,03$) em vacas tratadas com CO do que em vacas não tratadas. Houve uma menor ($P<0,01$) incidência de mastite em vacas tratadas com BC do que nas não tratadas. Outros distúrbios não diferiram ($P>0,10$) entre os tratamentos. Nossos resultados mostram que a suplementação de CO aumentou as concentrações de iCa e reduziu a incidência de cetose, mas com menor produção de leite. Vacas que receberam BC pós-parto apresentaram maiores produções de leite, com menor incidência de mastite.

Palavras-chave: cetose, hipocalcemia, período de transição

ABSTRACT

The effects of supplementing butafosfan plus cyanocobalamin and calcium formate in postparturient dairy cows

The objectives of the experiment were to evaluate the effects of oral Ca supplementation and injectable butafosfan plus cyanocobalamin on mineral and energy metabolism. Two-hundred and eight multiparous Holsteins were randomly assigned in a 2x2 factorial arrangement: Negative Control (NC=52), which received three subcutaneous (SC) injections of 25 mL of saline solution at 0, 3, and 7 DIM; Oral Ca (OC=52), which received orally two doses of 350 mL (50 g of Ca) as Ca formate at 0 and 1 DIM; Cyanocobalamin plus Butafosfan (CB=52) which received three SC injections of 25 mL of cyanocobalamin (0.005 mg/mL) plus butafosfan (0.1 g/mL) at 0, 3, and 7 DIM; and Positive Control (PC=52), which received Ca formate and cyanocobalamin plus butafosfan. Daily milk yield was recorded during the first 100 DIM. Milk was sampled and analyzed in the first two weeks postpartum. Blood was sampled at 3, 7 and 14 DIM to analyze β -hydroxybutyrate (BHB) and at 0, 12, 24, 36 and 72 h postpartum to analyze ionized Ca (iCa). Clinical evaluations on days 1, 3, 7 and 14 were performed to determine incidence of diseases. Data were analyzed using the MIXED and GLIMMIX procedures of SAS. Cows which orally received OC had lower ($P<0.01$) milk yields than control ones (47.48 vs. 48.41 kg/d; SEM=0.22), and cows supplemented with CB had higher ($P<0.05$) yields than non-treated ones (48.34 vs. 47.55 kg/d; SEM=0.26), with no ($P>0.10$) interaction. Milk composition and BHB concentrations did not differ ($P>0.10$) among treatments. Concentrations of iCa were higher at 12h ($P=0.08$) and 36h ($P<0.01$) in the OC treatment and at 36h ($P=0.05$) in the CB treatment, with ($P=0.05$) interaction at 36h. The incidence of subclinical ketosis was lower in cows treated with OC ($P=0.03$) than non-OC treated cows. There was a lower incidence of mastitis in cows treated with CB ($P<0.01$) than non-CB treated ones. Other disorders did not differ ($P>0.10$) among treatments. Our results show that OC supplementation increased iCa concentrations and reduced incidence of ketosis, but they had lower milk yields. Cows that received CB postpartum had increased milk yield and reduced incidence of mastitis.

Keywords: ketosis, hypocalcemia, transition period

1 INTRODUÇÃO

No final da gestação de uma vaca leiteira a necessidade nutricional diária aumenta em 30% e em torno de 75% no início da lactação, podendo este déficit energético persistir por 10 a 12 semanas (GONZÁLEZ e SILVA, 2006). Sendo assim, o organismo passa a utilizar rotas catabólicas para suprir o desequilíbrio energético, aumentando o risco de transtornos no metabolismo (MANDEBVU et al., 2003). Nesse cenário inicia-se o balanço energético negativo (BEN) e para suprir as demandas energéticas de manutenção e lactação, o metabolismo da vaca utiliza da mobilização de tecido adiposo para suprir a deficiência energética. Mesmo reconhecendo que é fisiológico, grande parte das vacas leiteiras entram em BEN no período periparto (WATHES et al., 2007), dependendo de sua intensidade e duração, o BEN pode passar a ser um grande problema. Com excessiva mobilização de tecido adiposo, a vaca pode apresentar esteatose hepática e acetonemia no pós-parto (DUFFIELD e BAGG, 2002).

No início da lactação, a exigência de Ca aumenta subitamente, principalmente pela glândula mamária para dar suporte à produção de leite. No entanto, algumas vacas não são capazes de atender com sucesso essa necessidade mineral e, conseqüentemente, desenvolvem hipocalcemia. Atualmente, a hipocalcemia clínica é relativamente rara, mas 41 a 54% das vacas multíparas apresentam hipocalcemia subclínica (HCS) (REINHARDT et al., 2011).

A HCS está associada ao comprometimento da função imunitária, aumento do risco de outras doenças (cetose subclínica, deslocamento de abomaso, metrite e endometrite subclínica), redução na ingestão de matéria seca (MS) e decréscimo na produção de leite (CHAPINAL et al., 2011, 2012; MARTINEZ et al., 2012, 2014; RIBEIRO et al., 2013). A redução da excreção urinária de Ca, o aumento da remoção de Ca dos ossos e o aumento na absorção intestinal de Ca são mecanismos utilizados para evitar a redução das concentrações totais de Ca no sangue.

Desse modo, existem alternativas que podem ser benéficas para as vacas no período de transição, com o propósito de melhorar a eficiência do metabolismo energético e mineral. A utilização de aditivos e suplementos minerais e vitamínicos podem auxiliar a minimizar a ocorrência dessas desordens, uma vez que vacas de alta produção apresentam deficiência desses nutrientes e estão sob maior risco.

O uso de butafosfana mais cianocobalamina para vacas no pós-parto imediato parece ser eficiente para o metabolismo energético, uma vez que esses suplementos estão fortemente associados às vias metabólicas de produção de energia (PEREIRA

et al., 2013).

A suplementação de cálcio via oral, através do formiato de cálcio para vacas recém-paridas, parece ser uma estratégia eficaz (CARNEIRO et al., 2017), capaz de proporcionar um acréscimo nos níveis de Ca ionizável, nesse momento decisivo de uma vaca produzindo colostro, e posteriormente leite, a qual demanda muito cálcio sérico para esse processo.

O sinergismo dos dois produtos (formiato de cálcio mais cianocobalamina e butafosafno) pode ser promissor para vacas no período de transição, pois suplementando essas moléculas no organismo animal, prováveis exigências metabólicas e minerais serão supridas simultaneamente. Também é possível que haja uma interação entre estes dois produtos, pois reconhecidamente as doenças no período de transição estão interrelacionadas (MULLIGAN e DOHERTY, 2008).

O principal objetivo desse estudo é demonstrar os efeitos da administração de formiato de cálcio, butafosfana mais cianocobalamina e a interação de ambos sobre o metabolismo energético e mineral de vacas leiteiras no período pós-parto. Como objetivos específicos, a avaliação será feita através da aferição de parâmetros metabólicos, tais como as concentrações de cálcio total (tCa), iônico (iCa), ácidos graxos não esterificados (AGNE), beta-hidroxibutirato (BHBA), além de parâmetros de saúde hepática. Também foram avaliadas as taxas de incidência de enfermidades (hipocalcemia clínica, cetose, deslocamento de abomaso, mastite, metrite e retenção de placenta), produção e composição do leite.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná por meio do certificado protocolado sob o número 001/2018.

2.1 LOCAL DO EXPERIMENTO

O experimento foi realizado na Agropecuária Regia, cujos proprietários são Marvin e Marcos Epp, na Colônia Witmarsum, município de Palmeira, Paraná. O rebanho é formado exclusivamente por vacas da raça Holandesa. As vacas são alojadas em confinamento do tipo *free-stall* e ordenhadas três vezes ao dia (4:00, 12:00, 20:00).

Durante o período pré-parto as vacas são separadas entre multíparas e nulíparas e são movidas para esse lote faltando 30 dias para o parto, conforme a data prevista de parto. Recebem dieta acidogênica durante esse período e o pH urinário é

monitorado semanalmente a fim de manter um controle da eficácia do manejo alimentar desse grupo.

Para o momento do parto, as vacas são movidas para um pequeno lote maternidade separado das demais vacas no pré-parto. Nesse lote a propriedade preza por conforto e tranquilidade para as vacas em trabalho de parto. Apenas vacas com dificuldade no parto recebem auxílio dos funcionários ou médico veterinário. A vaca recém parida é ordenhada e a colostragem é feita nas primeiras horas.

Após o parto a vaca é movida para um lote de recém paridas onde permanecerá por aproximadamente duas semanas. Nesse grupo as vacas são ordenhadas depois do terceiro dia na ordenha convencional, antes disso uma ordenha acessória é usada para ordenhar essas vacas com até 3 dias após o parto. Nesse lote pós-parto, as vacas são monitoradas diariamente pelo médico veterinário.

A fazenda não faz uso corrente de drench e de cálcio oral/injetável no pós-parto, possibilitando a condução do estudo.

2.2 PROGRAMAÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento teve duração aproximada de 4 meses, iniciando em maio e concluindo em agosto de 2018. Neste protocolo foram avaliados 208 animais experimentais, todas vacas multíparas com número médio de ordem de lactação de $2,9 \pm 1,1$. As vacas ficaram em média $21,3 \pm 6,6$ dias no lote pré-parto e $16,1 \pm 2,4$ dias no lote de recém-paridas.

2.3 TRATAMENTOS

O total de animais experimentais foi de 208 vacas (106 secundíparas e 102 multíparas) no pós-parto, distribuídas entre os 4 grupos de tratamento em um arranjo fatorial 2 x 2: CN – Controle Negativo (n=52) que receberam três aplicações, nos dias 0, 3 e 7, de 25mL/IM, de solução fisiológica (NaCl 0,9%); CO – Cálcio Oral (n=52) que receberam duas aplicações, nos dias 0 e 1, de 350 ml de formiato de cálcio (50 g de Ca) Calfon Oral®; CB (n=52) que receberam três aplicações, dias 0, 3 e 7, de 25mL/IM, de cianocobalamina (0,005 mg por mL) mais butafosfana (0,1 g por mL) Catosal B12®; CP – Controle Positivo (n=52) que receberam duas aplicações, nos dias 0 e 1, de 350 mL de formiato de cálcio e que também receberam três aplicações, nos dias 0, 3 e 7, de 25mL/IM, de cianocobalamina e butafosfana.

2.4 COLETA DE DADOS

O efeito dos tratamentos no desempenho produtivo foi analisado por meio das pesagens diárias de produção de leite e da estimativa da produção acumulada de leite nos primeiros 30, 60 e 100 dias de lactação.

Já o efeito dos tratamentos na composição do leite (teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e caseína), bem como, no nitrogênio ureico no leite (NUL) e na contagem de células somáticas (CCS), foi determinado a partir de uma coleta semanal. Até o final do período pós-parto e saída das vacas desse lote, uma ou duas amostras de leite foram obtidas para determinação da sua composição. As amostras foram coletadas com DEL médio de $5,7 \pm 2,3$.

O ECC foi avaliado em escala de 1 a 5 pontos (WILDMAN et al., 1982), em que 1 (magro) e 5 (obeso), por dois avaliadores independentes, em dois momentos distintos: no dia do parto que representa a entrada do animal no experimento e no dia 14-21, ao final do período pós-parto. Além do ECC, outra variável que foi estimada foi a variação no peso corporal entre o início e o final do período, através da fita torácica de pesagem nos mesmos dias de avaliação do ECC.

Amostras de sangue (10 mL) foram colhidas da veia ou artéria coccígea em tubo sem anticoagulante (com acelerador de coagulação), após a ordenha da manhã e manuseados de acordo com as recomendações de Stokol e Nydam (2005) com os animais contidos em canzís. Em seguida, as amostras foram centrifugadas (15 min a 3500 rpm) e o soro armazenado em microtubos (em duplicata), conservadas sob refrigeração a -20°C até seu transporte aos respectivos laboratórios de análises.

TABELA 1 – ROTINA DE COLETAS E OS PARÂMETROS ANALISADOS NOS DISTINTOS TEMPOS EXPERIMENTAIS:

	Dia 0 (0h)	Dia 0 (12h)	Dia 1 (24h)	Dia 1 (36h)	Dia 3 (72h)	Dia 7	Dia 14	Dia 30
Cálcio total	X	X	X	X	X			
Cálcio iônico	X	X	X	X	X			
Fósforo	X		X		X	X	X	X
Magnésio	X		X		X	X	X	X
BHB ¹					X	X	X	
AGNE ²	X					X		
AST ³	X		X		X	X	X	X
GGT ⁴	X		X		X	X	X	X
Albumina	X		X		X	X	X	X
Bilirrubina	X		X		X	X	X	X
Proteína total	X		X		X	X	X	X
Colesterol	X		X		X	X	X	X
Triglicerídeos	X		X		X	X	X	X
Ureia	X		X		X	X	X	X
Glicose	X		X		X	X	X	X

¹Beta-hidroxobutirato; ²Ácido graxo não esterificado; ³Enzima aspartato transaminase; ⁴Enzima glutamiltransferase.

Os valores de Ca total, albumina, bilirrubina, colesterol, enzimas AST e GGT, ureia, glicose e os minerais Mg e P foram determinados por analisador bioquímico automático (BS-200, MINDRAY®). Na determinação de tCa as amostras de soro foram

submetidas ao método colorimétrico (kit DIALAB®), pelo método ARZENAZO III, no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária, do Setor de Ciências Agrárias da UFPR, Campus Curitiba. Já para o iCa o método utilizado foi a gasometria (RAPIDPoint® 350 Blood Gas Analyser), no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Erasto Gaertner, em Curitiba, Paraná.

As determinações de AGNE (ácidos graxos não esterificados) e BHB (beta-hidroxiacetato) foram quantificadas por metodologia enzimática colorimétrica, usando reagentes padronizados comerciais da marca Randox® (Kit NEFA FA115 e Kit Ranbut D-3 Hidroxiacetato RB 1007, respectivamente).

Além da coleta de sangue em tubos para a análise laboratorial, também foram coletadas amostras para análise da concentração sanguínea de β -cetonas, através de tiras-teste (Precision Xtra – blood β -ketones test strips) no aparelho Optium Xceed, da marca Abbott Laboratories (Abbott Park, IL). Estas determinações com tiras-teste foram realizadas nos dias +3, +7 e +14 após o parto.

Na avaliação da dieta dos animais foram coletadas amostras quinzenais dos ingredientes volumosos. Também foram coletadas amostras semanais de dieta total (TMR), tanto do lote pré-parto, como do pós-parto. As amostras de TMR e volumosos foram analisadas no Laboratório de Nutrição Animal, do Setor de Ciências Agrárias da UFPR, em Curitiba-PR. Estas amostras foram mantidas sob refrigeração ao longo do ensaio e até seu transporte para Curitiba. As amostras descongeladas foram pré-secas a 60-65°C por 72 horas, sendo então trituradas em moinho estacionário Willey, para determinação dos teores de matéria seca a 100°C, proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA). A PB foi determinada por aparelho de destilação a vapor Microkjeldhal. Teores de FDN e FDA foram determinados de acordo com Van Soest et al. (1991). Foram analisados os dois cátions (K e Na) utilizados no cálculo do DCAD (NRC, 2001), no Laboratório de Nutrição Animal da UFPR.

TABELA 2 – COMPOSIÇÃO DAS DIETAS PRÉ E PÓS-PARTO OFERECIDAS AOS ANIMAIS EXPERIMENTAIS (EM % DE MATÉRIA SECA):

Ingredientes	Pré-parto	Pós-parto
Silagem de milho	64,80	26,93
Pré-secado de aveia	14,87	-
Pré-secado de azevém	-	17,56
Farelo de soja	15,09	15,00
Milho grão moído	3,35	13,23
Casca de soja	-	9,25
Caroço de algodão	-	5,61

Farelo de glúten de milho	-	6,58
Resíduo de cervejaria	-	3,25
Núcleo mineral-vitaminico*	-	2,59
Núcleo pré-parto**	1,89	-

* P (g/Kg) mín 35 Ca (g/Kg) mín 95 Ca (g/Kg) máx 120 Ca (g/Kg) med 107,5 S (g/Kg) mín 15 Na (g/Kg) mín 106 Mg (g/Kg) mín 38 Co (mg/Kg) mín 11,5 Cu (mg/Kg) mín 417 Fe (mg/Kg) mín 875 Cr (mg/Kg) mín 16,5 I (mg/Kg) mín 17,5 Mn (mg/Kg) mín 1165 Se (mg/Kg) mín 15 Zn (mg/Kg) mín 2330 F (mg/Kg) máx 420 monensina (mg/Kg) 1700 Vit A (UI) mín 170000 Vit D3 (UI) mín 60000 Vit E (UI) mín 1000 Biotina (mg/Kg) mín 66.5 Levedura (UFC/Kg) $1,25 \times 10^9$

** P (g/Kg) mín 30 Ca (g/Kg) mín 106 Ca (g/Kg) máx 130 Ca (g/Kg) med 118 S (g/Kg) mín 90 Na (g/Kg) mín 31 Mg (g/Kg) mín 20 Co (mg/Kg) mín 12 Cu (mg/Kg) mín 600 Fe (mg/Kg) mín 600 Cr (mg/Kg) mín 30 I (mg/Kg) mín 60 Mn (mg/Kg) mín 1600 Se (mg/Kg) mín 16 Zn (mg/Kg) mín 2400 F (mg/Kg) máx 300 Monensina (mg/Kg) 500 Vit A (UI) mín 480000 Vit D3 (UI) mín 100000 Vit E (UI) mín 12000 Biotina (mg/Kg) mín 80 Levedura (UFC/Kg) $1,5 \times 10^9$

Amostras	MS%	%RM	%PB	%EE	%FDN	%FDA	%LIG	%Ca	%P	%Na	%K
TMR Pré-Parto	43,9	6,3	13,1	3,4	39,3	20,5	3,1	0,4	0,3	0,1	1,0
TMR Pós-Parto	51,3	6,3	14,3	4,0	39,8	20,4	2,6	0,6	0,4	0,4	1,0
Silagem de Milho	39,9	2,8	7,4	3,5	42,6	22,6	2,7	0,2	0,2	0,0	0,7
Pré-Secado Azevem	52,4	8,3	10,5	4,8	55,7	32,0	5,0	0,4	0,2	0,1	1,7
Pré-Secado Aveia	46,4	14,1	8,6	3,5	63,3	38,4	9,6	0,3	0,2	0,1	1,8

Ao longo dos 30 dias iniciais de lactação, todas as ocorrências clínicas foram registradas, bem como, todas as mortes e descartes, voluntários e involuntários, observados nos animais de ambos os lotes. Porém nos dias +1, +3, +7 e +14 foram feitas avaliações clínicas para desordens como cetose clínica, hipocalcemia clínica, retenção de placenta, metrite, mastite e deslocamento de abomaso, e em todas as vacas do experimento foram realizadas aferições de temperatura e exames clínicos.

2.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os animais foram blocados por ordem de parição (secundíparas e múltiparas) e por data prevista do parto. Como os animais estavam no primeiro dia de lactação, não houve blocagem por produção de leite. Dentro de cada um dos 52 blocos, os animais foram alocados aleatoriamente aos tratamentos.

O modelo estatístico teve os efeitos fixos de bloco, tratamento com CO, tratamento com CB e a interação de ambos, através do procedimento de modelos mistos, com análises repetidas no tempo, do procedimento MIXED do SAS (v.9.14). Dentro do efeito de bloco foram inclusos os efeitos de ordem de parição, de data de parto e de ECC. O procedimento GLIMMIX do SAS foi utilizado para analisar dados de distribuição não normal, como incidência de doenças e índices reprodutivos. O teste de Tukey-Kramer foi utilizado para comparar as médias ajustadas de cada tratamento a um nível de significância de 5%.

3 RESULTADOS

Algumas informações zootécnicas relevantes no estudo são descritas a fim de relatar a situação das vacas durante o período experimental. O número médio de lactações dos animais experimentais foi de 2,85. Os animais ficaram em média 21 dias no lote pré-parto e 16 dias no pós-parto. A média de ECC das vacas no parto foi de 3,43 e na saída do lote pós-parto foi de 3,20; assim, a perda de ECC nos primeiros 16 dias foi em média de 0,23 ponto. O peso corporal das vacas no parto foi em média 722 kg e na saída do lote pós-parto foi de 683 kg. Com isso, a perda de peso médio durante o pós-parto foi de 39 kg.

Não houve diferença ($P>0,05$) nos resultados de aferições da temperatura em nenhum dos tempos e tratamentos. Percebeu-se que as médias se mantiveram muito próximas umas das outras: dia 1 (38,84°C), dia 3 (38,89°C), dia 7 (38,94°C) e dia 14 (38,91°C).

Na observação da frequência de dificuldade dos partos, 76,0% foram categorizados fáceis ou sem assistência, 10,5% tiveram intervenção leve e 13,5% foram partos considerados difíceis e tiveram intervenção com tração do(a) bezerro(a). Contudo, na distribuição em cada um dos tratamentos não houve diferença ($P>0,05$) no grau de dificuldade do parto. Também em relação as observações dos partos, 5,8% foram gemelares e 94,2% simples. Da totalidade dos partos, ocorreram 11 natimortos (5,3%) e não houve nenhum caso de aborto durante o período experimental.

A fim de manter um controle e verificar a eficácia da dieta pré-parto, foram mensurados semanalmente valores de pH urinário das vacas no lote pré-parto. A média do pH urinário ao longo de 15 semanas foi de 6,42, indicando uma moderada acidose metabólica, um pouco além dos valores de pH urinário desejáveis neste período, entre 5,5 e 6,0.

As médias ajustadas e respectivos erros padrões das variáveis que foram avaliadas são apresentadas nas tabelas a seguir. Conforme pode ser observado na Tabela 3, a produção média de leite (kg/d) nos 100 primeiros dias de lactação foi maior ($P<0,05$) em vacas tratadas com CB e menor ($P<0,05$) em vacas que receberam CO como tratamento.

Nas análises dos componentes do leite (teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e CCS) não foram observadas ($P>0,05$) diferenças entre os tratamentos. No entanto, observou-se menores ($P<0,05$) valores de NUL para vacas do grupo CB (Tabela 3).

TABELA 3 - MÉDIAS DE PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE DOS TRATAMENTOS E SUAS INTERAÇÕES:

Varáveis	EPM				P-value ¹			
	CN	CO	CB	CP	CNxCO	CNxCB	CNxCP	
Produção de leite 100 dias (kg/d)	48,12 ^{ab}	47,12 ^b	48,65 ^a	48,00 ^{ab}	0,42	<0,01	0,03	0,05
Teor de gordura (%)	4,55	4,84	4,69	4,73	0,13	0,18	0,91	0,34
Teor de proteína (%)	3,87	3,91	3,80	3,80	0,08	0,81	0,22	0,71
Relação gordura:proteína	1,17	1,27	1,27	1,26	0,04	0,29	0,28	0,25
Teor de lactose (%)	4,46	4,45	4,44	4,50	0,04	0,48	0,65	0,29
Teor de sólidos (%)	13,96	14,30	13,96	14,03	0,16	0,20	0,40	0,39
NUL (mg/dL)	14,00 ^{ab}	14,93 ^a	12,75 ^b	14,24 ^{ab}	0,70	0,08	0,17	0,02
Score linear CCS (log)	3,55	3,45	3,68	3,33	0,18	0,20	0,95	0,49

CN: controle negativo; CO: tratamento cálcio oral; CB: tratamento cianocobalamina mais butafosfana; CP: controle positivo; NUL: nitrogênio ureico no leite

TABELA 4 - MÉDIAS DE CONCENTRAÇÃO DE CÁLCIO IÔNICO E BETA-HIDROXIBUTIRATO AO LONGO DO EXPERIMENTO DOS TRATAMENTOS E SUAS INTERAÇÕES:

Varáveis	P- value ¹							
	CN	CO	CB	CP	EPM	CNxCO	CNxCB	CNxCP
Concentração iCa (mmol/l)	0,984	0,998	0,995	1,018	0,010	0,04	0,10	0,60
iCa 0h (mmol/l)	0,977	0,955	0,985	0,980	0,013	0,30	0,24	0,58
iCa 12h (mmol/l)	0,960 ^b	1,003 ^{ab}	0,961 ^{ab}	1,006 ^a	0,016	<0,01	0,89	0,05
iCa 24h (mmol/l)	0,977	0,978	0,986	0,997	0,013	0,64	0,27	0,70
iCa 36h (mmol/l)	0,980 ^c	1,000 ^b	0,995 ^{bc}	1,039 ^a	0,012	<0,01	0,03	<0,01
iCa 72h (mmol/l)	1,027 ^b	1,054 ^{ab}	1,045 ^{ab}	1,069 ^a	0,012	0,05	0,18	0,02
Concentração BHB fita (mmol/L)	0,944	0,872	0,906	0,953	0,060	0,82	0,70	0,29
BHB d3 (mmol/L)	0,836	0,810	0,804	0,869	0,051	0,71	0,79	0,37
BHB d7 (mmol/L)	0,977	0,915	1,021	0,960	0,080	0,45	0,58	1,00
BHB d14 (mmol/L)	1,019	0,890	0,875	1,031	0,085	0,88	0,98	0,10

CN: controle negative; CO: tratamento cálcio oral; CB: tratamento cianocobalamina mais butafosfana; CP: controle positive; iCa: cálcio iônico; BHB: beta-hidroxitirato.

TABELA 5 - INCIDÊNCIA DE DOENÇAS NO PÓS-PARTO COMPARANDO OS TRATAMENTOS E SUAS INTERAÇÕES:

Varáveis	EPM				P- value ¹			
	CN	CO	CB	CP	CNxCO	CNxCB	CNxCP	
Incidência de Cetose	0,432 ^a	0,215 ^b	0,450 ^a	0,384 ^{ab}	0,321	0,14	0,21	
Incidência de HCSC	0,727	0,804	0,838	0,801	0,379	0,35	0,32	
HCSC 0h	0,454	0,661	0,536	0,588	0,420	0,97	0,28	
HCSC 12h	0,557	0,445	0,593	0,461	0,303	0,71	0,88	
HCSC 24h	0,536	0,613	0,479	0,460	0,291	0,37	0,61	
HCSC 36h	0,505 ^a	0,450 ^b	0,505 ^{ab}	0,195 ^c	0,321	0,04	0,05	
HCSC 72h	0,294	0,222	0,218	0,189	0,353	0,36	0,76	
Incidência de Mastite	0,011 ^a	0,012 ^a	0,002 ^b	0,006 ^{ab}	0,605	<0,01	0,18	
Incidência de RP	0,138	0,125	0,097	0,041	0,530	0,37	0,58	
Incidência de Metrite	0,133	0,121	0,056	0,100	0,504	0,23	0,45	

CN: controle negative; CO: tratamento cálcio oral; CB: tratamento cianocobalamina mais butafosfana; CP: controle positive; HCSC: hipocalcemia subclínica; RP: retenção de placenta.

TABELA 6 - ANÁLISES BIOQUÍMICAS REALIZADAS NO PÓS-PARTO COMPARANDO OS TRATAMENTOS E SUAS INTERAÇÕES:

Varáveis	EPM				P- value ¹			
	CN	CO	CB	CP	CNxCO	CNxCB	CNxCP	
Albumina (g/dL)	3,137	3,120	3,144	3,151	0,040	0,64	0,76	
Albumina d0	3,265	3,027	3,344	3,331	0,080	0,19	0,16	
Albumina d1	3,200	3,163	3,138	3,150	0,044	0,55	0,76	
Albumina d3	3,064	3,122	3,008	3,064	0,058	0,32	0,99	
Albumina d7	3,027	3,173	3,079	3,053	0,053	0,53	0,11	
Globulina (g/dL)	3,123	3,160	3,174	3,035	0,121	0,76	0,46	
Globulina d0	2,820	2,734	2,742	2,842	0,132	0,90	0,50	
Globulina d1	3,023	2,975	2,954	2,904	0,089	0,58	0,99	
Globulina d3	3,110	3,040	3,565	3,007	0,311	0,50	0,44	
Globulina d7	3,550	3,854	3,446	3,371	0,237	0,22	0,43	
Proteína total (g/dL)	6,254	6,267	6,181	6,157	0,095	0,33	0,84	
Proteína d0	6,083	5,761	6,086	6,173	0,186	0,26	0,27	
Proteína d1	6,202	6,138	6,115	5,936	0,109	0,20	0,60	
Proteína d3	6,155	6,181	6,003	6,086	0,124	0,32	0,82	
Proteína d7	6,600	6,973	6,526	6,425	0,236	0,53	0,30	

CN: controle negative; CO: tratamento cálcio oral; CB: tratamento cianocobalamina mais butafosfana; CP: controle positive.

Varáveis	EPM			P- value ¹		
	CN	CO	CP	CNxCO	CNxCB	CNxCP
NEFA (mmol/L)						
NEFA d0	0,629	1,052	0,589	0,35	0,27	0,33
NEFA d7	0,710	0,685	0,670	0,70	0,80	0,64
NEFA d7	0,522	0,955	0,501	0,31	0,30	0,97
Colesterol (mg/dL)						
Colesterol d0	69,52 ^a	65,00 ^b	68,15 ^{ab}	0,03	0,21	0,41
Colesterol d1	58,30	50,71	58,43	0,20	0,23	0,22
Colesterol d3	63,44	61,12	62,00	0,13	0,46	0,80
Colesterol d7	70,85	65,14	68,10	0,17	0,98	0,15
Colesterol d7	86,06	83,20	84,47	0,24	0,60	0,90
Bilirubina (mg/dL)						
Bilirubina d0	0,454	0,437	0,429	0,91	0,46	0,64
Bilirubina d1	0,382	0,379	0,368	0,78	0,78	0,90
Bilirubina d3	0,371	0,430	0,415	0,18	0,99	0,69
Bilirubina d7	0,592	0,506	0,552	0,56	0,88	0,32
Bilirubina d7	0,428	0,352	0,342	0,32	0,31	0,33
Triglicerideo (mg/dL)						
Triglicerideo d0	8,115 ^{ab}	8,851 ^a	8,305 ^{ab}	0,09	0,22	0,92
Triglicerideo d1	10,07	9,37	10,23	0,81	0,98	0,17
Triglicerideo d3	7,35	8,32	8,08	0,08	0,92	0,64
Triglicerideo d7	7,86	8,07	7,89	0,34	0,36	0,58
Triglicerideo d7	7,06 ^{ab}	9,63 ^a	7,01 ^{ab}	0,15	0,14	0,27

Varáveis	P- value ¹							
	CN	CO	CB	CP	EPM	CNxCO	CNxCB	CNxCP
AST (U/L)	88,30	89,28	82,17	88,20	4,455	0,42	0,41	0,57
AST d0	71,35	61,20	68,33	69,26	2,460	0,07	0,31	0,06
AST d1	82,76	82,53	79,19	87,93	3,771	0,26	0,80	0,23
AST d3	99,23 ^a	93,25 ^{ab}	81,63 ^b	91,91 ^{ab}	4,956	0,66	0,05	0,09
AST d7	100,41	121,90	98,98	102,22	10,961	0,26	0,34	0,41
GGT (U/L)	23,80	23,91	23,24	23,29	1,128	0,94	0,60	0,98
GGT d0	24,27	22,27	24,30	24,53	0,941	0,35	0,23	0,24
GGT d1	23,75	23,37	21,89*	23,00	0,761	0,86	42	0,10
GGT d3	23,17	21,74	20,57*	21,69	0,995	0,87	0,06	0,20
GGT d7	23,98	29,24	26,05	23,84	2,840	0,60	0,56	0,19
Ureia (mg/dL)	29,89	29,64	27,95	28,75	0,920	0,75	0,10	0,54
Ureia d0	27,47	26,06	24,81	26,85	0,921	0,73	0,41	0,06
Ureia d1	27,81	28,03	27,73	27,48	1,001	0,99	0,75	0,82
Ureia d3	31,87	31,94	29,63	30,16	1,300	0,81	0,12	0,86
Ureia d7	32,78	33,00*	31,78	30,26	1,171	0,58	0,11	0,46

Varáveis	P- value ¹							
	CN	CO	CB	CP	EPM	CNxCO	CNxCB	CNxCP
P (mg/dL)	5,126	5,540	5,168	5,068	0,242	0,55	0,37	0,29
P d0	4,867	4,440	5,200	4,879	0,248	0,14	0,12	0,83
P d1	4,913	5,023	4,967	4,767	0,174	0,80	0,56	0,38
P d3	5,624	5,489	5,542	5,642	0,181	0,92	0,84	0,51
P d7	5,036	7,135	4,960	4,940	0,882	0,24	0,20	0,23
Mg (mg/dL)	2,885	2,818	2,942	2,933	0,052	0,46	0,10	0,58
Mg d0	2,422	2,331	2,508	2,750	0,096	0,43	0,10	0,09
Mg d1	3,661	3,561	3,684	3,660	0,095	0,51	0,53	0,70
Mg d3	3,068	2,937	3,104	2,912	0,134	0,23	0,97	0,82
Mg d7	2,368	2,404	2,467	2,390	0,070	0,77	0,55	0,43

CN: controle negativo; CO: tratamento cálcio oral; CB: tratamento cianocobalamina mais butafosfana; CP: controle positivo; NEFA: ácido graxo não esterificado; AST: enzima aspartato transaminase; GGT: enzima glutamilttransferase; P: fósforo; Mg: magnésio.

As concentrações de iCa foram maiores às 12h ($P<0,01$), 36h ($P<0,01$) e 72h pós-parto ($P=0,05$) no tratamento com CO e às 36h pós-parto ($P<0,05$) no tratamento com CB. Também houve diferença na interação CP ($P<0,05$) às 36h e às 72h pós-parto, com maiores concentrações de iCa nos animais CP, tratados com Ca oral e com cianocobalamina mais butafosfana. Não houve diferença ($P>0,05$) nas concentrações de BHB entre os grupos Tabela 4.

Na Tabela 5 estão descritas as incidências de algumas enfermidades. A incidência de cetose foi menor ($P<0,05$) em vacas tratadas com CO e na interação CP ($P<0,05$), porém na comparação de médias entre CO vs. CP não houve ($P>0,05$) diferença.

A incidência de hipocalcemia subclínica não foi diferente entre os tratamentos durante todo o período pós-parto, mesmo porque nesta avaliação todos os tempos são avaliados em conjunto, mesmo aqueles anteriores ao início de suplementação dos tratamentos, além de tempos muito distantes dos momentos da suplementação. Porém no tempo 36h pós-parto, vacas do grupo CO apresentaram menor ($P<0,05$) incidência de HCSC comparado aos demais tratamentos. Animais do grupo CP tiveram incidências ainda menores ($P<0,01$) comparadas até mesmo ao grupo CO. A incidência de mastite clínica foi menor ($P<0,01$) no grupo de vacas CB comparada aos demais grupos. Outras incidências de desordens como deslocamento de abomaso, retenção de placenta e metrite não diferiram ($P>0,05$) entre os tratamentos.

Concentrações médias de albumina, globulina, proteína total, colesterol, bilirrubina, triglicerídeos, enzimas AST e GGT, ureia, P e Mg são mostradas na Tabela 6. Para vacas suplementadas apenas com CB, concentrações mais altas ($P<0,05$) de colesterol foram observadas comparado as vacas do grupo que foram suplementadas apenas com CO. Vacas que receberam somente CO apresentaram maiores ($P<0,05$) concentrações de triglicerídios em relação às vacas que receberam somente CB como tratamento. Essa diferença nas concentrações de triglicerídeos ocorreu também ($P<0,05$) na análise do dia 7 pós-parto.

Não houve diferença nas concentrações de AST ao longo do experimento em nenhum dos tratamentos. No entanto, quando analisado isoladamente no terceiro dia após o parto, houve menor ($P<0,05$) concentração de AST em vacas tratadas somente com CB em relação às vacas do CN.

Para as concentrações da enzima GGT, ao longo do estudo, não houve diferença em nenhum dos tratamentos ($P>0,05$). Porém, no primeiro e terceiro dia pós-parto, houve tendência ($P<0,07$) de menores concentrações de GGT no grupo de vacas tratadas com CB.

Apenas no sétimo dia pós-parto houve uma tendência ($P=0,10$) em menor concentração de ureia em vacas tratadas apenas com CO. As demais concentrações

de analitos, metabólitos e minerais não apresentaram nenhuma diferença entre os tratamentos.

FIGURA 1 – MÉDIAS DE PRODUÇÃO DE LEITE EM 100 DIAS DE LACTAÇÃO COMPARANDO OS TRATAMENTOS E SUAS INTERAÇÕES. (*) INDICA QUAL TRATAMENTO APRESENTOU DIFERENÇA ($P \leq 0,05$).

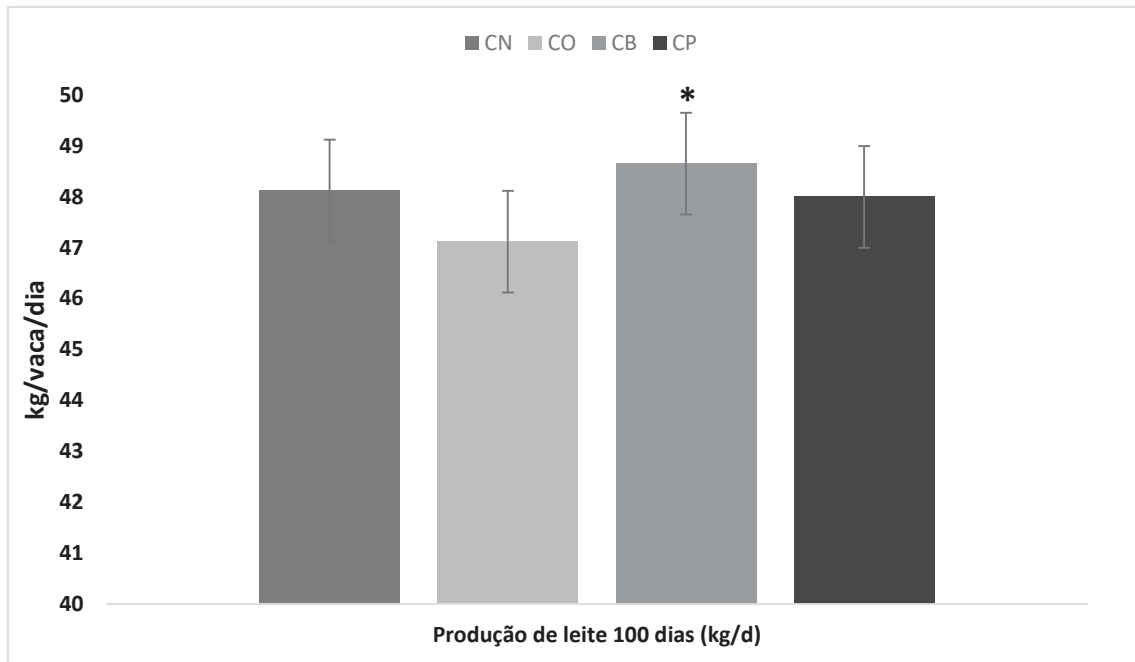


FIGURA 2 – MÉDIAS DE CONCENTRAÇÃO DE BHB (FITA) EM TRÊS DIFERENTES MOMENTOS DE AFERIÇÃO COMPARANDO OS TRATAMENTOS E SUAS INTERAÇÕES.

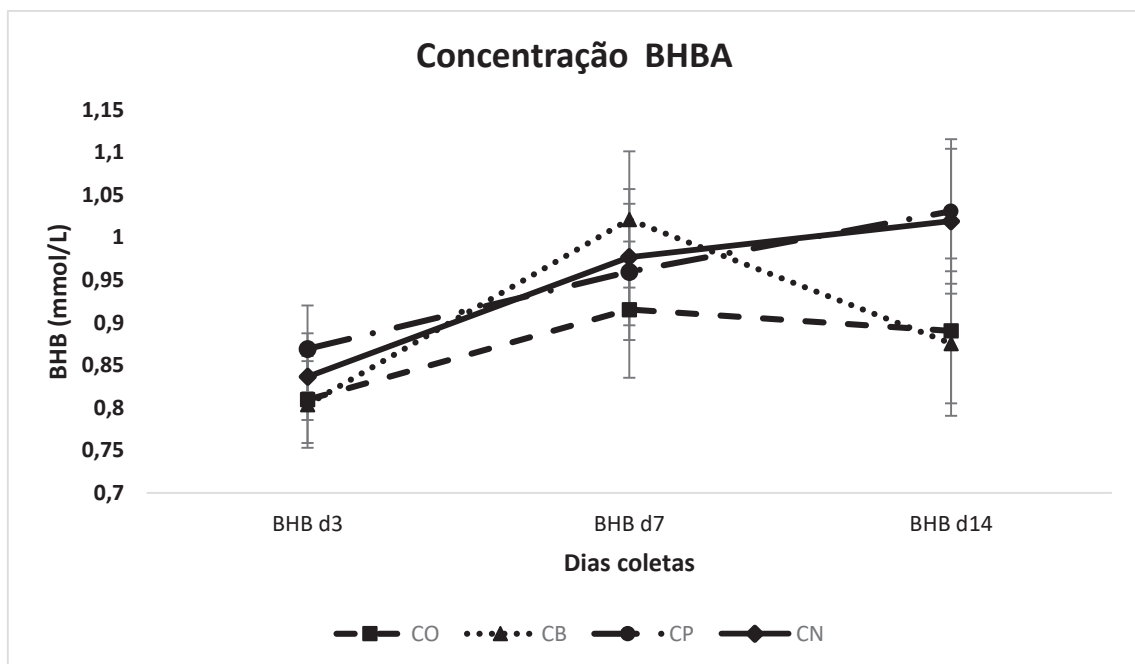


FIGURA 3 - MÉDIAS DE CONCENTRAÇÃO DE iCa EM CINCO DIFERENTES MOMENTOS DE AFERIÇÃO COMPARANDO OS TRATAMENTOS E SUAS INTERAÇÕES. (*) INDICA EM QUAIS TEMPOS HOUVE DIFERENÇA ($P \leq 0,05$).

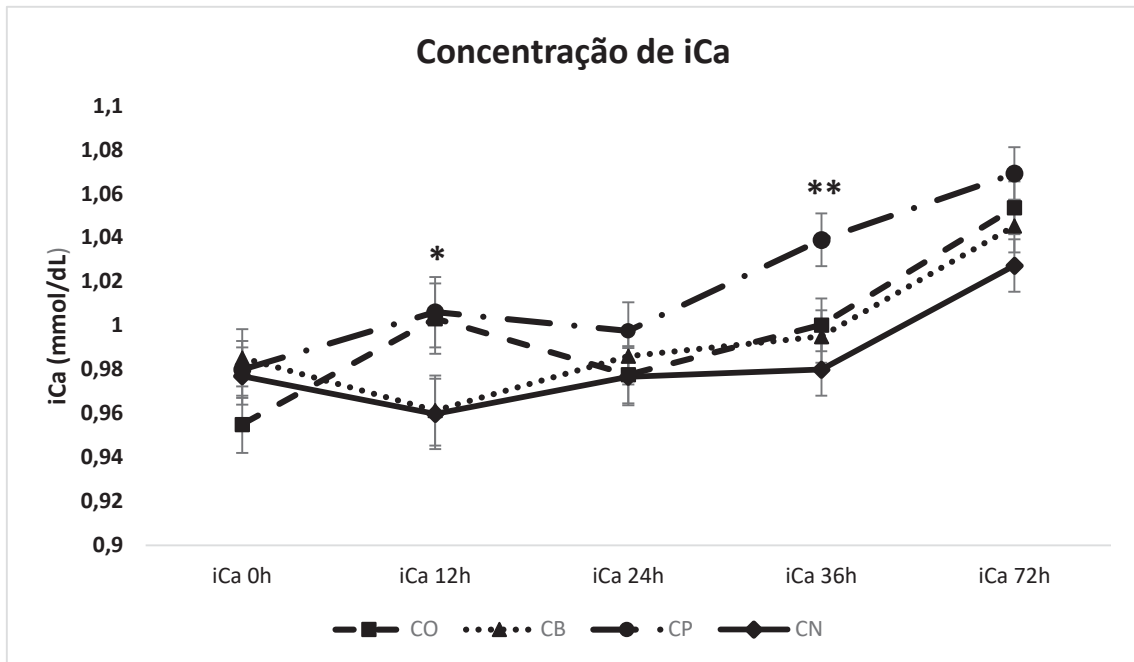


FIGURA 4 - MÉDIAS DE CONCENTRAÇÃO DE iCa NO PÓS-PARTO COMPARANDO OS TRATAMENTOS E SUAS INTERAÇÕES. (*) INDICA EM QUAL TRATAMENTO HOUVE DIFERENÇA ($P \leq 0,05$).

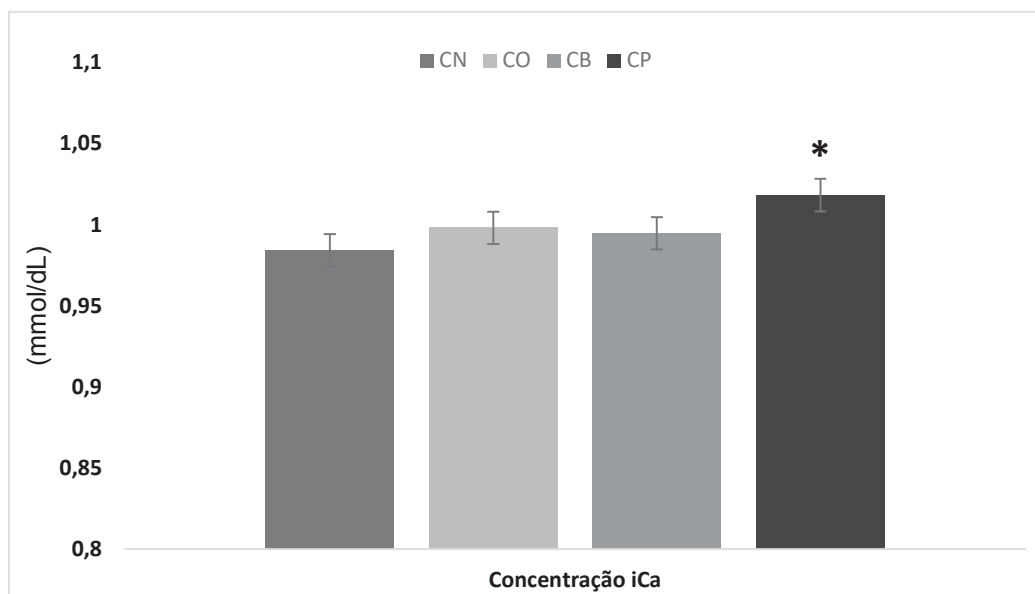
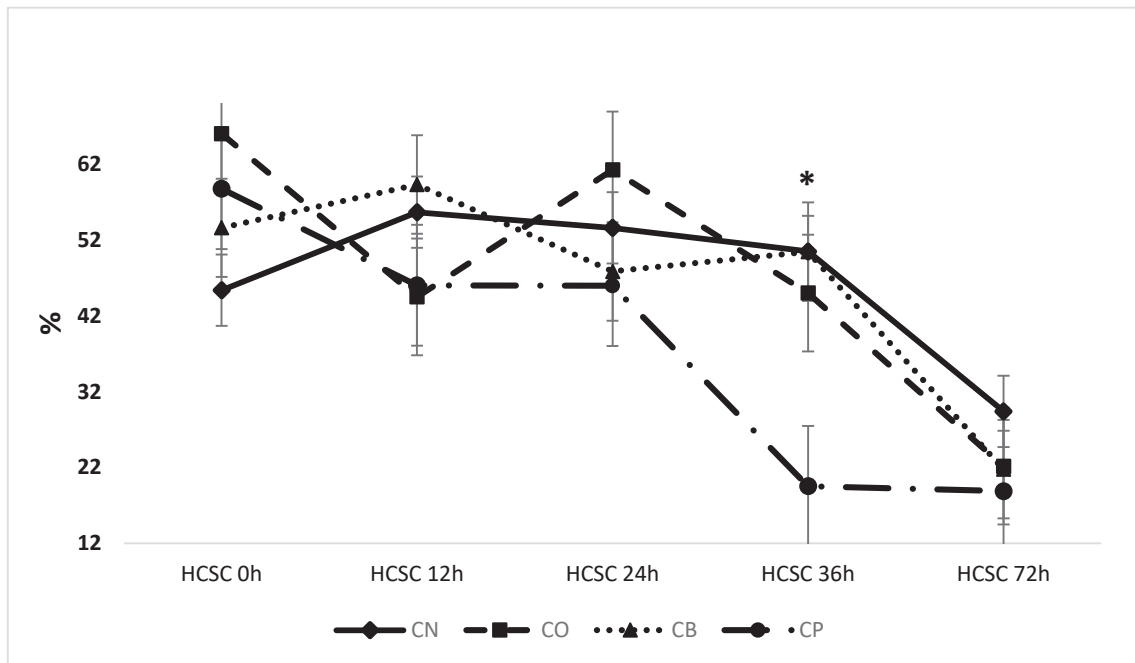


FIGURA 5 – INCIDÊNCIA DE HCS EM CINCO DIFERENTES MOMENTOS DE AFERIÇÃO COMPARANDO OS TRATAMENTOS E SUAS INTERAÇÕES. (*) INDICA EM QUAIS TEMPOS HOUE DIFERENÇA ($P \leq 0,05$).



4 DISCUSSÃO

4.1 GERAL

A propriedade em que o estudo foi conduzido contém um rebanho com média de produção de leite de 40 kg/vaca/dia. Associado ao potencial genético dos animais, se tem uma nutrição e manejo impecáveis, garantindo índices zootécnicos muito acima da média da região. O manejo de pré e pós-parto são bem realizados, proporcionando um período de transição efetivo. Essa somatória de fatores positivos ao rebanho fez com que o estudo realizado tivesse um alto grau de desafio em relação às moléculas testadas. Contudo, esse desafio proporcionou um estudo concreto e com mínima interferência de fatores externos que pudessem desqualificar os resultados obtidos.

4.2 PRODUÇÃO DE LEITE

Na avaliação da produção de leite no período de 100 dias de lactação, observou-se um melhor desempenho dos animais tratados com butafosfana mais cianocobalamina, demonstrando uma melhora no metabolismo energético, possivelmente devido a uma maior ingestão alimentar (LOPEZ et al., 2004). A

butafosfana garante a disponibilidade de maiores concentrações intracelulares de íons fosfato para formação de novas moléculas de ATP, tornando mais eficiente o ciclo de Krebs, principal responsável pela geração de energia (DENIZ, 2008). Já a vitamina B12, que tem papel fundamental como cofator enzimático e age diretamente no metabolismo energético. Possivelmente esta tenha facilitado a conversão de ácidos graxos em succinil-CoA, um passo essencial para a entrada destes no ciclo de Krebs e a sua utilização como um substrato gliconeogênico (KENNEDY et al., 1990).

Provavelmente a menor média de produção de leite no grupo de vacas tratadas apenas com CO (FIGURA 1) está relacionado ao possível estresse que o produto da suplementação oral de formiato de cálcio, forçado, causa nos animais nas primeiras horas pós-parto. Outra hipótese para a menor produção foi a menor mobilização de tecido adiposo em que as vacas do grupo CO apresentaram.

4.3 CONCENTRAÇÕES DE BETA-HIDROXIBUTIRATO (BHB)

A incidência de cetose (clínica + subclínica) encontrada no estudo (36,5%) está acima dos valores descritos para rebanhos norte-americanos de 28% (MCART et al., 2012), porém abaixo de valores encontrados por Gordin et al. (2017), de 43%. Há vários fatores de risco para cetose e entre eles está a alta produção de leite. O fato deste rebanho ser um dos mais produtivos do país, certamente contribuiu para a alta incidência de cetose verificada. A relação das concentrações de BHB sanguíneos com a data da coleta foi significativa; o pico de BHB ocorreu entre o 7º e o 14º dia pós-parto, concordando com os dados de Chang et al. (2008).

No pós-parto os animais tipicamente passam pelo balanço energético negativo e para conseguir manter a produção no início da lactação é necessário algum grau de mobilização de tecido corporal. A lipólise acentuada pode se tornar um problema, resultando em cetose, mas a mobilização reduzida pode não dar suporte à produção de leite no pós-parto. Assim, as produções de leite mais baixas para animais com concentrações de BHB inferiores a 0,6 mmol/L são resultados de uma mobilização insuficiente ou até inexistente para dar suporte à produção no início da lactação. Assim, os resultados do presente trabalho se diferenciam um pouco dos resultados de Ospina et al. (2010) e das conclusões de LeBlanc (2017) que afirmam que a cetose afeta negativamente a produção de leite.

As concentrações de BHBA não foram afetadas significativamente para nenhum dos tratamentos (FIGURA 2) e esse resultado contraria principalmente os estudos com butafosfana mais cianocobalamina, que tipicamente relatam menores

concentrações de BHBA em vacas tratadas (LOHR et al., 2006, DENIZ et al., 2008, FÜRLL et al., 2010, ROLLIN et al., 2010, PEREIRA et al., 2013, GORDON et al., 2017). Contudo, a não diferença obtida em nosso estudo pode ser explicada pelo incremento na produção de leite que vacas tratadas com CB apresentaram e, com isso, as concentrações de BHBA provavelmente seriam maiores, porém o tratamento CB fez com que as concentrações não subissem. Em outras palavras, maiores produções de leite acompanhadas de concentrações de BHB não aumentadas nos animais tratados com CB, podem ser interpretadas como um resultado favorável.

Há uma hipótese de que vacas leiteiras de alta produção no início da lactação podem ter uma deficiência relativa ou real de cianocobalamina (GIRARD e MATTE, 2005) e a falta dela pode prejudicar o metabolismo energético. A enzima metilmalonil-CoA mutase é dependente de cianocobalamina, sendo essa que transforma metilmalonil-CoA em succinil-CoA. Portanto, a cianocobalamina é importante para a entrada do propionato no ciclo de Krebs e a utilização de propionato para a gliconeogênese (MYKKÄNEN e KORPELA, 1981; GIRARD e MATTE, 2005).

4.4 CONCENTRAÇÕES DE CÁLCIO IÔNICO (iCa)

A incidência de HCSC observada no presente estudo, 78%, está muito acima dos valores encontrados em outros trabalhos. Reinhardt et al. (2011), Chamberlin et al. (2013) e Martinez et al. (2014) relataram valores de 40 a 55% de incidência de HCSC em vacas multíparas. Esse valor relativamente alto encontrado em nosso trabalho certamente está associado ao maior número de coletas realizadas durante os primeiros momentos pós-parto em comparação aos demais estudos. No presente estudo, cinco coletas foram realizadas e bastava uma das concentrações ser inferior a 1,0 mmol/L para esta vaca ser categorizada como hipocalcêmica. Se contabilizarmos apenas as primeiras 24 horas pós-parto, a incidência se reduz para aceitáveis 52%. Por outro lado, adotou-se o limiar de 1,0 mmol/L (ou 8,0 mg/dL) para diferenciar vacas hipocalcêmicas das normocalcêmicas e se adotássemos o limiar 8,6 mg/dL recomendado por Martinez et al. (2014) certamente a proporção de vacas categorizadas como hipocalcêmicas seria ainda maior.

O aumento abrupto nos requerimentos de Ca de vacas leiteiras periparturientes desafia seus mecanismos homeoréticos para manter a concentração ótima de Ca no sangue. Através dos resultados obtidos no experimento, observamos que as vacas tratadas com formiato de cálcio tiveram um incremento na concentração de iCa após

as aplicações no pós-parto imediato; 0 e 24 horas pós-parto. Essa diferença a favor dos animais suplementados com Ca oral se manteve por aproximadamente 12 horas após as suplementações (FIGURA 3), em concordância com os resultados de Carneiro et al. (2017), sendo que as maiores concentrações de iCa se deram com 12 e 36 horas pós-parto.

Estudos sobre o efeito do Ca oral no pós-parto têm sido promissores, particularmente em vacas multíparas e de alto potencial produtivo. Martinez et al. (2016b) demonstraram que a concentração sérica de iCa foi maior para vacas suplementadas com Ca oral (CaCl₂ e CaSO₄) em comparação com vacas não suplementadas. Afshar Farnia et al. (2018) compararam o efeito da combinação da dieta acidogênica no final de gestação e Ca oral (CaCl₂) pós-parto, concluindo que a combinação de ambos proporcionou uma maior concentração de Ca no sangue às 6 e 12 horas após o parto e a suplementação de cálcio oral.

Em seu estudo, Oetzel (2013) fez a suplementação de cálcio oral com menor espaço de tempo entre um tratamento e outro (de 12 em 12 horas), e também suplementou com cálcio oral uma primeira dose com 12 horas antes do parto. Por mais que haja incremento na concentração de iCa nas vacas suplementadas, a grande dificuldade nesse protocolo é definir o momento correto para a suplementação no pré-parto.

A importância de entender a duração sistêmica da suplementação de cálcio oral foi e continua sendo motivo de estudos na área. As vacas absorvem uma quantidade eficaz de cálcio na circulação sanguínea em aproximadamente 30 minutos após a suplementação, mantendo concentrações aumentadas de iCa no sangue por 4 a 6 horas (OETZEL, 2013). Se as amostras forem coletadas de 8 horas em diante do tratamento, as diferenças são minimizadas ou até mesmo deixam de existir. Porém, no nosso protocolo de suplementação e com o formiato como fonte de cálcio, o grupo suplementado manteve seus níveis de cálcio distintos e mais elevados por até 12 horas após cada tratamento, comparado com grupos não tratados com cálcio oral (FIGURA 4). Os efeitos do Ca no sangue são mais prováveis de serem obtidos se o Ca oral for administrado dentro das primeiras 24 horas pós-parto (HERNANDEZ et al., 1999).

Apesar do fosfato, oriundo da molécula de Butafosfan, ter influência na absorção de Ca, o equilíbrio metabólico destes elementos é estabelecido por mecanismos dinâmicos, com rápida recuperação da relação sérica (FLASSHOFF 1974, SCHUH 1994). Os resultados refletem as respostas obtidas por Karatzias (1985), relativos à administração de solução fosfórica em vacas leiteiras, que mostraram não haver influência sobre os níveis séricos de fósforo, e conseqüentemente de Ca, mantendo-se os teores fisiológicos durante todo o período experimental.

4.5 INCIDÊNCIAS DE DOENÇAS

A incidência de desordens no pós-parto está associada a um decréscimo da produção de leite. Suthar et al. (2013) ressaltaram que as doenças no início de lactação são as principais causas de perdas econômicas, seja pelo custo do diagnóstico e tratamento, ou pela redução na produtividade. Segundo Edwards e Tozer (2004), produções de leite de vacas doentes foram aproximadamente 15 kg/dia inferiores às produções de leite de vacas sadias. Os resultados nesse trabalho não foram expressivos para diminuição das desordens no pós-parto. Teoricamente, vacas que apresentam melhores níveis de cálcio nos primeiros dias pós-parto, são animais com menos desordens nesse período. Não foi observado esse comportamento para as maiorias das doenças analisadas nesse estudo.

Vacas tratadas com CO tiveram menores incidências de cetose (FIGURA 5). Apesar da incidência ser menor para esse grupo de vacas tratadas, as concentrações de BHB não foram diferentes. Em vacas tratadas apenas com CB, foram observadas incidências menores de mastite. Provavelmente, vacas suplementadas com CB tiveram melhor aporte energético, e com isso, maior resistência a infecções na glândula mamária. Esse resultado não foi observado em outros estudos realizados com a mesma molécula.

A suplementação de cálcio oral utilizada nas vacas nas primeiras horas após o parto resulta em melhor calcemia e reflete menores incidências nos casos de hipocalcemia subclínica. Como observado no estudo, vacas suplementadas com o formiato de cálcio, além de apresentarem maiores concentrações de iCa no sangue, o grupo tratado apresenta menor incidência de HCS nas primeiras 36 horas pós-parto. Esse resultado está de acordo com outros trabalhos em que o objetivo foi avaliar a suplementação de cálcio oral no pós-parto (MARTINEZ et al., 2016; CARNEIRO et al., 2017).

Reinhardt et al., (2011) demonstraram que a HCS está relacionada a outras desordens como, retenção de placenta, metrite, mastite, deslocamento de abomaso e cetose. O aporte de cálcio nas primeiras horas é de suma importância para manter padrões fisiológicos importantes para saúde da vaca leiteira. Além de menores concentrações de hipocalcemia subclínica, vacas tratadas com CO apresentaram menores incidências de cetose (FIGURA 5). O resultado observado pode ser relacionado com melhores níveis de cálcio para vacas desse grupo e, conseqüentemente, melhores resultados na interação entre o metabolismo mineral e energético. Também podemos concluir que as concentrações e incidências de cetose

foram menores nesse grupo de vacas, uma vez que a produção de leite também foi menor TABELA 1. Dessa forma, vacas que mobilizam menos reservas corporais são animais com menores incidências de cetose, porém com menores produções de leite.

4.6 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Confirmando os achados de Deniz et al. (2008) no tratamento com CB em vacas recém paridas não foram encontradas diferenças nas concentrações de glicose sanguínea. No entanto, contrariando os resultados de Hansel et al. (1992), que observaram uma redução nos níveis de cortisol e um consequente aumento de insulina e glicose em bovinos tratados com butafosfana e cianocobalamina. Esse resultado vem de encontro aos resultados obtidos por Cuteri et al. (2008), podendo ser atribuído ao fato da glicose ser muito estável, em função aos diversos mecanismos de homeostase da glicemia em vacas leiteiras.

As concentrações de colesterol em todos tratamentos estão abaixo de valores fisiológicos (90-120mg/dL) (KANECO, 1997), fato que não é comum no período lactacional, atribuído à maior concentração plasmática de lipoproteínas (GONZÁLEZ & SILVA, 2006). No entanto, vacas tratadas apenas com CO apresentam as menores concentrações de colesterol e vacas tratadas com CB as maiores. Valores menores de concentração de colesterol representam menor mobilização do tecido adiposo, ao contrário de concentrações mais elevadas de colesterol que representam melhor eficiência no metabolismo energético e exportação de triglicerídeos do fígado pelas lipoproteínas. Os resultados da concentração de triglicerídeos apoiam essa hipótese, uma vez que o grupo com maior concentração foi o de vacas tratadas apenas com CO e com menor concentração o grupo de vacas tratadas com CB. Assim, as vacas com melhores concentrações de colesterol, foram vacas com menores concentrações de triglicerídeos.

Não houve diferença em relação às enzimas hepáticas AST e GGT, porém houve uma tendência nos resultados obtidos que nos leva a acreditar que as concentrações menores, tanto de AST, quanto de GG estão fortemente relacionadas à eficiência no metabolismo energético que a suplementação de CB causou nos animais do grupo. Portanto, o fígado se torna menos sobrecarregado e mais eficiente com a mobilização exacerbada nesses primeiros dias de lactação. A saúde hepática pode estar relacionada com a concentração de algumas enzimas. Dessa forma, vacas tratadas com CB apresentam uma tendência de melhores parâmetros hepáticos em relação aos demais grupos.

5 CONCLUSÃO

Nossos resultados mostram que a suplementação de formiato de cálcio aumentam as concentrações de iCa e de triglicerídeos, diminui as concentrações de colesterol total e reduz a incidência de cetose, porém apresenta uma menor produção de leite. Vacas que receberam suplementação de butafosfana mais cianocobalamina pós-parto apresentam maiores produções de leite, com menores incidências de mastite.

A administração do butafosfana e cianocobalamina no pós-parto de vacas leiteiras, mostra-se promissora, com melhores condições energéticas, reduzindo o BEN e melhorando o desempenho produtivo. Vacas suplementadas com cálcio oral via formiato de cálcio no pós-parto, apresentam melhora na concentração de cálcio iônico. Conseqüentemente, com esse aporte mineral, os animais apresentaram menores incidências de doenças no pós-parto, porém não houve aumento na produtividade.

REFERÊNCIAS

ALVES, N. G.; PEREIRA, M. N.; COELHO, R. M. Nutrição e reprodução em vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.6, p.118-124. 2009.

BAUMAN, D.E., VERNON, R. G. Effects of exogenous bovine somatotropin on lactation. **Journal of Dairy Science**. v.13, p. 437, 1993.

BELL, A. W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **Journal of Animal Science**, v.73, p.2804-2819. 1995.

BLOCK, E. Transition cow research – What makes sense today? **High Plains Dairy Conference 75**, Amarillo, Texas. 2010.

BRONNER, F. Intestinal calcium absorption: mechanisms and applications. **The Journal of Nutrition**, v. 117, n. 8, p. 1347-1352, 1987.

CALDEIRA, R. M. Monitorização da adequação do plano alimentar e do estado nutricional em ovelhas. **Revista Portuguesa de Clinicas VeterináriaS**, v. 100, p. 125-139, 2005.

CHURCH, C.D. El ruminante: fisiología digestiva y nutrición. Editorial Acribia: Zaragoza, 645 p. 1993.

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

DRACKLEY, J. K.; DANN, H. M.; DOUGLAS, G. N. Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. **Italian Journal of Animal Science**, v.4, p.323-344, 2005.

DUFFIELD, T. F., LEBLANC, S. J. Interpretation of serum metabolic parameters around the transition period. In: **Southwest Nutrition and Management Conference**, 24, Arizona, p.106-114, 2009.

CANTAROW, A.; SHEPARTZ. Bioquímica. 4 ed. Rio de Janeiro: Atheneu, p. 675-684, 1968.

CALDEIRA R. M. Monitorização da adequação do plano alimentar e do estado nutricional em ovelhas. **Revista Portuguesa de Clinicas Veterinária**. v.100; p.125-139; 2005.

CHAGAS, L.M.; LUCY, M.C.; BACK, P.J. et al. Insulin resistance in divergent strains of Holstein-Friesian dairy cows offered fresh pasture and increasing amounts of concentrate in early lactation. **Journal of Dairy Science**. v.92, p.216- 222, 2009.

CHEW, B.P.; MURDOCK, F.R.; RILEY, R.E.; HILLERS, J.K. influence of prepartum dietary crude protein on growth hormone, insulin, reproduction, and lactation of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.67, p.270-275, 1984.

CHILLIARD, Y.; REMOND, B.; SAUVANT, D.; VERMOREL, M. Particularités du métabolisme énergétique. In: Particularités nutritionnelles des vaches à haut potentiel de production. **Bull. Tech. CRZV**, v.53, p.37-64, 1983.

CRAIGE, A. H.; I. V. STOLL. Milk fever (parturient paresis) as a manifestation of alkalosis. **Am. J. Vet. Res**, v. 8, p. 168-173, 1947.

DRACKLEY, J. K.; DANN, H. M.; DOUGLAS, G. N. Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. **Italian Journal of Animal Science**, v. 4, p. 323-344, 2005.

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

DUPLESSIS, M.; LAPIERRE, H.; PELLERIN, D.; LAFOREST, J.-P.; GIRARD, C. L. Effects of intramuscular injections of folic acid, vitamin B12, or both, on lactational performance and energy status of multiparous dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 4051-4064, 2017.

EDGERTON, L. A.; HAFS, I. I. D. Serum luteinizing hormone, prolactin, glucocorticoid, and progestagens in dairy cows from calving to gestation. **Journal of Dairy Science**, v.56, p.451-458, 1973.

FURLL, M.; OETZEL, R.; SCHOON, H. A. The influence of various calcium chloride formulations on blood calcium levels and calcium excretion in the urine, as well as the tolerance of cows to the formulations. **Proceedings of XX World Buiatric Conference**, Sydney, 143- 146, 1998.

FÜRLL, M.; DENIZ, A.; WESTPHAL, B.; ILLING, C.; CONSTABLE, P. D. Effect of multiple intravenous injections of butaphosphan and cyanocobalamin on the metabolism of periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 4155-64, 2010.

GARRETT, O.R. Ketosis and Hepatic Lipidosis in Dairy Herds. **Preconvention Seminar 7: Dairy Herd Problem Investigation Strategies**.36th Annual Conference, September . Columbus, OH. p15-17, 2003.

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. **Journal of Animal Science**, v. 80, p.176-186, 1997.

GONZÁLEZ, F. H. D.; CAMPOS, R. Indicadores metabólico-nutricionais do leite. Anais I Simpósio de Patologia Clínica da Veterinária da Região Sul do Brasil. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 31-47, 2003.

GORDON, J.L.; LEBLANC, S.J.; KELTON, D.F.; HERDT, T.H.; et al. Randomized clinical field trial on the effects of butaphosphancyanocobalamin and propylene glycol on ketosis resolution and milk production. **Journal of Animal Science**, v. 100, p.176-186, 2017.

GRUMMER, R. R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 2820-2833, 1995.

GULAY, M. S.; HAYEN, M. J.; LIBONI, M. et al. Low doses of bovine somatotropin during the transition period and early lactation improves milk yield, efficiency of production, and other physiological responses of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 9, p. 948- 960, 2004.

GUYTON, A.C.; HALL, J. E. Fisiologia Médica. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 841-851. 2002.

HORST et al. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, 2005.

JONES, T. C.; HUNT, R.D.; KING, N. W. Patologia Veterinária. 6 ed. São Paulo:Manole. p. 813-815. 2000.

JORGENSEN RJ, BASSE A and ASLAN V. Sequelae to oral calcium chloride gel dosing of cows. Proceedings of XVI World Buiatric Congress, Brazil, 511, 1990.

KENNEDY' D.G, CANNAVAN', A. MOLLOY⁴, F. O' HARTE', S. M. TAYLOR², S. K. A. W. J. B. Deficient Sheep. **British Journal of Nutrition**, v. 64, p. 121-132, 1990.

KUNZ, A. B. R.; RUDE, E. Insulin-specific T cell hybridomas derived from (H-2b × H-2k)F1 mice preferably employ F1unique restriction elements for antigen recognition. **European Journal of Immunology**, v.15, p.1048–1054, 1985.

LAGO, E. P.; PIRES, A. V.; SUSIN I.; FARIAS V. P.; LAGO L. A. Efeito da condição corporal ao parto sobre alguns parâmetros do metabolismo energético, produção de leite e incidência de doenças no pós-parto de vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p.1544-1549. 2004.

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

LEBLANC, S. J.; LESLIE, K. E.; DUFFIELD, T. F. Metabolic predictors of displaced

abomasum in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 159-170, 2005.

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

LIU, P. T., S. STENGER, H. LI, L. WENZEL, B. H. TAN, S. R. KRUTZIK, M. T. OCHOA, J. SCHAUBER, K. WU, C. MEINKEN, D. L. KAMEN, M. WAGNER, R. BALS, A. STEINMEYER, U. ZÜGEL, R. L. GALLO, D. EISENBERG, M. HEWISON, B. W. HOLLIS, J. S. ADAMS, B. R. BLOOM, R. L. MODLIN. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. **Science** 311:1770-1773. 2006.

LUCA, H.F.; MELANCON, M.J. 25-Hydrocholecalciferol: a hormonal form of vitamin D in biochemical actions of hormones. New York: Academic Press, p. 337-379. 1972.

LUKAS, J. M. et al. A study of methods for evaluating the success of the transition period in early-lactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.250-262, 2015.

LOHR B, BRUNNER B, JANOWITZ H, HUMMEL M, SEEGER T, WEBER I, WITTEK T, SCHMIDT B, HELLMANN K: Efficacy of Catosal® for the treatment of ketosis in cows with left abomasal displacement. **Tierärztl Umschau**; 61 (4): 187 – 190; 2006.

MCART, J.A.A., NYDAM, D.V., OETZEL, G.R. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.5056-5066, 2012.

MARTINEZ, N.; RISCO, C. A; LIMA, F. S., *et al.* Evaluation of peripartal calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 7158-7172, 2012.

MCINTYRE; S.J. WESTON. An investigation of the safety of oral calcium formate in dairy cows using clinical, biochemical and histopathological parameters. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 50, p. 195-198, 2002.

MOORE, S. J.; VANDEHAAR, M. J.; SHARMA, B. K.; PILBEAM, T. E. Effects of altering dietary cation-anion difference on calcium and energy metabolism in peripartum cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 2095-2104, 2000.

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

OETZEL, G. R. Monitoring and Testing Dairy Herds for Metabolic Disease. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.20, p.651-74. 2004.

ORTOLANI, E. L. Aspectos clínicos, epidemiológicos e terapêuticos da hipocalcemia de vacas leiteiras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 47, p. 799-808, 1995.

ORTOLANI, E.L. Diagnóstico de doenças nutricionais e metabólicas por meio de exame de urina em ruminantes. In: GONZÁLEZ, H.F. et al. (Eds.), 2002.

OSPINA, P. A. et al. Evaluation of nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.546-554, 2010a.

OVERTON, T. R.; WALDRON, M. R. Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 105-119, 2004.

PEREIRA, R. A.; SILVEIRA, P. A. S.; MONTAGNER, P. et al. Effect of butaphosphan and cyanocobalamin on postpartum metabolism and milk production in dairy cows. **Animal**, v. 7, p. 1143-1147, 2013.

RABELO, E.; CAMPOS, B. G. Fisiologia do período de transição. Ciência Animal Brasileira, Suplemento I: VII Congresso Brasileiro de Buiatria, **Anais**. 2009.

REINHARDT, T. A., HORST, R. L., GOFF, J. P. Calcium, phosphorus, and magnesium homeostasis in ruminants. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.**, v. 4, p. 331-350, 1988.

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

ROLLIN, E.; BERGHAUS, R. D.; RAPNICKI, P.; GODDEN, S. M.; OVERTON, M. W. The effect of injectable butaphosphan and cyanocobalamin on postpartum serum beta-hydroxybutyrate, calcium, and phosphorus concentrations in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 978-987, 2010.

RUDE, R. K. Magnesium deficiency: a cause of heterogeneous disease in humans. *Journal of Bone and Mineral Research*, Washington, v. 13, p. 749-758, 1998.

RASTANI, R. R. et al. Reducing dry period length to simplify feeding transition cows: milk production, energy balance, and metabolic profiles. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.1004-1014, 2005.

SANTOS, J.E.P. Distúrbios Metabólicos. In: BERCHIELLI, T.T; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. Nutrição de Ruminantes. Jaboticabal:Funep, p. 439-461. 2006.

SANTOS, J.E.P.; SANTOS, F.A.P. Novas estratégias no manejo e alimentação de vacas pré-parto. In: 10o SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL. Piracicaba. Anais... Piracicaba. p.165-214. 1998.

SANTOS, J.E.P. **Effect of degree of fatness prepartum on lactational performance and follicular development of early lactating dairy cows**. 107f. Dissertation (Master) - University of Arizona, Tucson, AR. 1996.

SANTOS, J. P. C.; LEA, S.D.C.B.S; MADEIRA, E. M.; SCHWEGLER, E.; PINO, F. A. B. D.; CORRÊA, I. B. M. N. Balanço Energético Negativo no Período do Periparto em Vacas de Aptidão Leiteira. NUPEEC – **Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária Pelotas**, novembro de 2009.

SMITH, B. L. Toxicity of zinc in ruminants in relation to facial eczema. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 25, p. 310-312, 1977.

SMITH, B. P. **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis, MO: Mosby. 1661p., 2002.

STUDER, V.A. ; GRUMMER, R.R.; BERTICS, S.J & REYNOLDS, C.K. Effect of propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. 76:2931-2339.1993.

VAN SOEST, P.J.; J.B. Robertson; B.A. LEWIS. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3583-3597, 1991.

VIEIRA-NETO, A I.R.P. LIMA, F. LOPES Jr., C. LOPERA, R. ZIMPEL, L.D.P. SINEDINO, K.C. JEONG, K. GALVÃO, W.W. THATCHER, C.D. NELSON, J.E.P. SANTOS. Use of calcitriol to maintain postpartum blood calcium and improve immune function in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Vol. 100, Issue 7, p. 5805–5823. 2017.

WENTINK, G.H; VAN DEN INGH. TSGAM. Oral administration of calcium chloride-containing products: testing for deleterious side effects. **Veterinary Quarterly**, v. 14, p. 76-80, 1992.

WITTEWER, F. Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.O.; OSPINA, H. ET AL. (Eds.) Porto Alegre: Editora da UFRGS, p.9-22. 2000.

WATHES, D. C; FENWICK, M.; CHENG, Z.; BOURNE, N.; LLEWELLYN, S.; MORRIS, D. G.; KENNY, D.; MURPHY, J.; FITZPATRICK, R. Influence of negative energy balance on cyclicity and fertility in the high producing dairy cow. **Theriogenology**, v.68, p.232-241, 2007.