

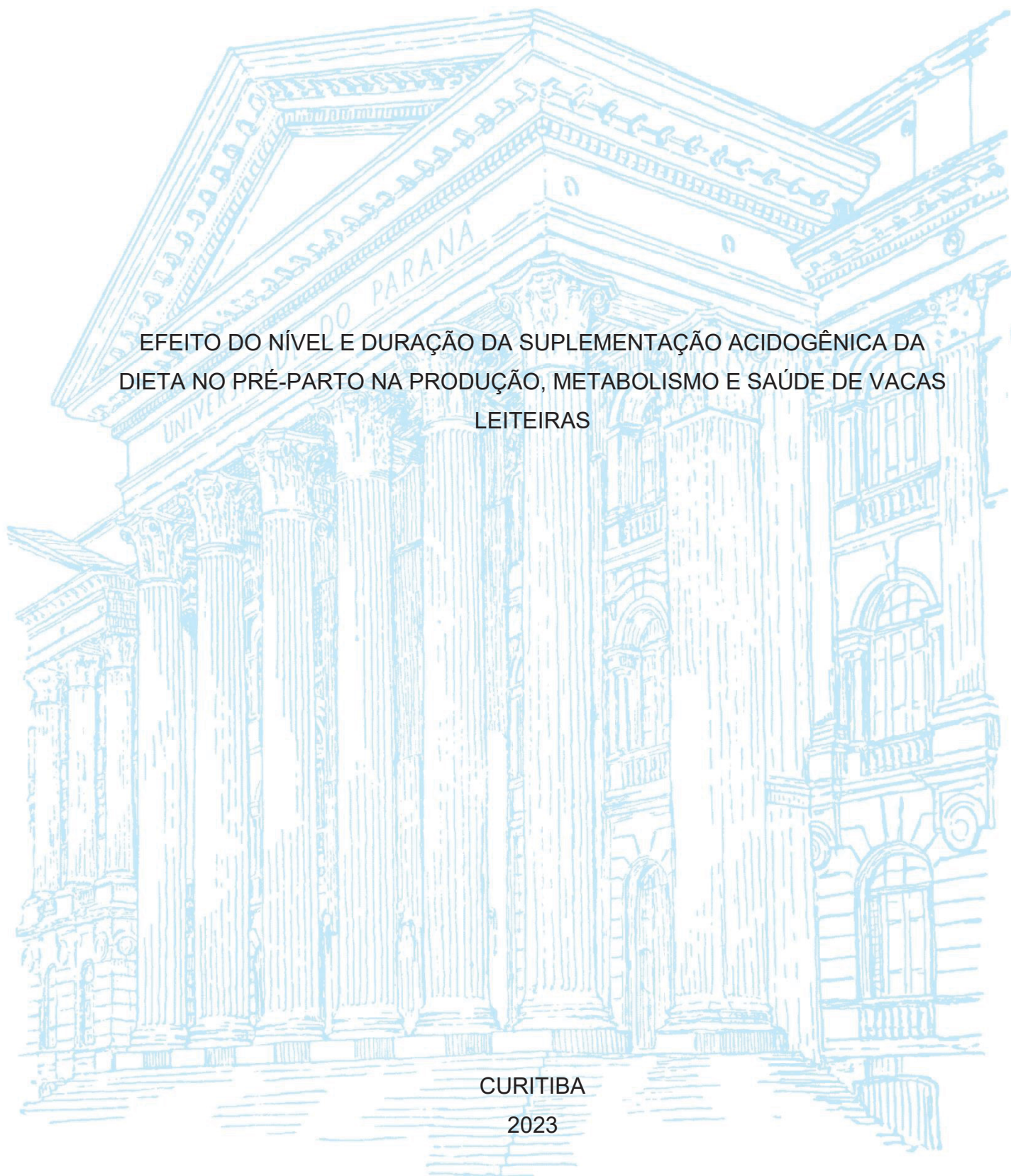
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JOSUÉ TEÓFILO RAMOS DE CARVALHO

EFEITO DO NÍVEL E DURAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO ACIDOGÊNICA DA  
DIETA NO PRÉ-PARTO NA PRODUÇÃO, METABOLISMO E SAÚDE DE VACAS  
LEITEIRAS

CURITIBA

2023



JOSUÉ TEÓFILO RAMOS DE CARVALHO

EFEITO DO NÍVEL E DURAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO ACIDOGÊNICA DA  
DIETA NO PRÉ-PARTO NA PRODUÇÃO, METABOLISMO E SAÚDE DE VACAS  
LEITEIRAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo de Almeida

Coorientador: Dr. Achilles Vieira Neto

CURITIBA

2023

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Carvalho, Josué Teófilo Ramos de  
Efeito do nível e duração da suplementação acidogênica da  
dieta no pré-parto na produção, metabolismo e saúde de vacas  
leiteiras / Josué Teófilo Ramos de Carvalho. – Curitiba, 2023.  
1 recurso online: PDF.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná,  
Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em  
Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo de Almeida  
Coorientador: Dr. Achilles Vieira Neto

1. Vacas. 2. Metabólitos. 3. Cálcio. I. Almeida, Rodrigo de .  
II. Vieira Neto, Achilles. III. Universidade Federal do Paraná.  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ZOOTECNIA -  
40001016062P0

### TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação ZOOTECNIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de JOSUÉ TEÓFILO RAMOS DE CARVALHO intitulada: Efeito do nível e duração da suplementação acidogênica da dieta no pré-parto na produção, metabolismo e saúde de vacas leiteiras, sob orientação do Prof. Dr. RODRIGO DE ALMEIDA, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO 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, 27 de Março de 2023.

RODRIGO DE ALMEIDA  
Presidente da Banca Examinadora

LUCIANO SOUZA CAIXETA  
Avaliador Externo (UNIVERSITY OF MINNESOTA)

RONNEY ZIMPEL  
Avaliador Externo (DSM - NUTRITIONAL PRODUCTS)

Dedico esta pesquisa à Deus em primeiro lugar, aos meus familiares, amigos e a todas às pessoas que acreditaram no meu trabalho.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por todas as bênçãos concedidas, por ser o provedor e sustentador de todas as coisas. Aquele que ouve e atende todas as nossas orações e ilumina todo o nosso percurso. Aquele que nos faz fortes quando estamos fracos e renova todo o nosso vigor. Aquele que nos torna conquistadores.

Agradeço aos meus pais Antônio e Maria Léa (*In memoriam*) por todos os ensinamentos, mesmo diante de tantas situações difíceis, eles me fizeram ser uma pessoa melhor. Aos meus irmãos, que sempre contribuíram e acreditaram no meu sonho. Aos meus sobrinhos e cunhados, tios e tias, a todos os parentes que acreditaram em mim e sempre estiveram à disposição para me ajudar.

Agradeço em especial à Gislaine, Georgia, Juliana, Pedro e Karise por toda amizade e apoio durante meu percurso no mestrado. “É com os bons que a gente fica mió”.

Aos meus amigos Wesley, Letícia, Rafael, Luquinha, Vitor, Cássia, Marco Túlio, Flaviane, Cecília, Jeniffer, Humberto, Gustavo, Aurélio, e tantos outros que já se tornaram peças inseparáveis da minha história.

Agradeço à Agropecuária Arkafla pelo acolhimento. Aos amigos Jean, Jorge, Larissa, Bruno, Dona Eliane, Cleverson, Everton, Juliano, Leandro e Élio pelo apoio durante o experimento.

À toda família Grupo do Leite por todo o aprendizado, companheirismo, acolhimento e paciência, a todos aqueles integrantes e pós-graduandos que marcam nossa trajetória como incentivadores e exemplos.

Ao professor Rodrigo de Almeida, em especial, por toda orientação e ensinamentos durante este percurso como mestrando. Obrigado pela paciência.

Aos amigos Roney Zimpel e Achilles pela grande ajuda e ensinamentos.

À Universidade Federal do Paraná pela oportunidade e pelo desafio proposto. Em especial ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UFPR. À Sílvia, muito querida e sempre alegre e disposta a nos ajudar.

Enfim, muito obrigado a todos!

*O Senhor repudia balanças desonestas, mas os pesos exatos lhe dão prazer.  
Quando vem o orgulho, chega a desgraça, mas a sabedoria está com os humildes.  
A integridade dos justos os guia, mas a falsidade dos infiéis os destrói.*

*Provérbios 11:1-3*

*Tudo o que fizerem, façam de todo o coração, como para o Senhor, e não para os  
homens, sabendo que receberão do Senhor a recompensa da herança. É a Cristo,  
o Senhor, que vocês estão servindo.*

*Colossenses 3: 23 e 24*

## RESUMO

Os objetivos foram avaliar os efeitos da alimentação com dietas com 2 níveis de diferença cátion-aniônica dietética (DCAD) negativa durante as últimas 4 ou 3 semanas de gestação sobre o desempenho, metabolismo e saúde de vacas leiteiras. O experimento teve um arranjo fatorial 2 x 2, com 2 níveis de DCAD negativa: -50 ou -150 mEq/kg MS, e 2 durações de suplementação acidogênica durante o período pré-parto: 21d (3W) ou 28d (4W). Cento e setenta e sete vacas Holandesas de um rebanho comercial foram blocadas por paridade e data prevista para o parto e alocadas aleatoriamente em 1 dos 4 tratamentos: 3W-50 (n=42), 3W-150 (n=43), 4W-50 (n=46) e 4W-150 (n=46). Os dados foram analisados por meio do procedimento MIXED do SAS, contendo os efeitos fixos de nível, duração, paridade, tempo e suas interações, e os efeitos aleatórios de bloco e vaca aninhada dentro do tratamento. O pH da urina foi menor no nível -150 (5,83 vs. 6,96 ± 0,07;  $P < 0,01$ ) e, como esperado, a duração da suplementação acidogênica foi menor no 3W (25,45 vs. 31,48 ± 0,62 d;  $P < 0,01$ ). As vacas tenderam a perder mais peso durante o período pós-parto quando alimentadas por 4W (47,1 vs. 32,7 ± 6,53 kg;  $P = 0,07$ ), e o teor de gordura do leite tendeu a ser maior quando as vacas foram suplementadas por 4W (3,95 vs. 3,75 ± 0,08%;  $P = 0,06$ ). As demais variáveis como escore de condição corporal, produção e Brix do colostro, composição do leite e contagem de células somáticas não diferiram entre os tratamentos. Também não houve diferença na produção de leite por duração (3W, 46,76 vs. 4W, 46,90 ± 0,84 kg/d;  $P = 0,91$ ) ou nível (-50, 47,18 vs. -150, 46,47 ± 0,84 kg/d;  $P = 0,55$ ). Em relação às medidas de metabólitos, observou-se maiores concentrações de gama glutamil transferase (29,4 vs. 27,4 ± 0,63 U/L;  $P = 0,01$ ) na duração 4W e menores concentrações de albumina no nível -150 (3,29 vs. 3,19 ± 0,03 g/dL;  $P = 0,02$ ). Também constatou-se uma tendência para menores concentrações de glicose medida pelo glicosímetro no sangue pós-parto na duração 3W (2,57 vs. 2,67 ± 0,04 mM;  $P = 0,09$ ) e no nível -50 (2,57 vs. 2,68 ± 0,04 mM;  $P = 0,05$ ). Não foram encontradas diferenças para as concentrações de aspartato amino transferase, triacilglicerol, colesterol, globulina, bilirrubina, glicose, ácido graxo não esterificado e beta-hidroxibutirato no sangue. Em relação ao cálcio total pós-parto, também não houve diferença para duração (1,90 vs. 1,92 ± 0,02 mM;  $P = 0,44$ ) ou nível (1,90 vs. 1,92 ± 0,02 mM;  $P = 0,30$ ). Observou-se tendências de redução do risco de retenção de placenta (20,7 vs. 11,4 ± 4,0 %;  $P = 0,10$ ) e hipocalcemia subclínica (82,7 vs. 71,7 ± 4,8 %;  $P = 0,09$ ) no nível -150. O desempenho produtivo, metabolismo e a saúde foram pouco influenciados pela manipulação dos níveis e durações de DCAD, pelo menos dentro da faixa recomendada de 4 a 3 semanas e nível de -50 a -150 mEq/kg MS de suplementação acidogênica na dieta pré-parto.

**Palavras-chave:** cálcio, DCAD, metabólitos, período de transição, pH urinário

## ABSTRACT

The objectives were to evaluate the effects of feeding diets with 2 levels of negative dietary cation-anion differences (DCAD) during the last 4 or 3 weeks of gestation on performance, metabolism, and health in dairy cows. The experiment had a 2 x 2 factorial design, with 2 levels of negative DCAD: -50 or -150 mEq/kg DM, and 2 durations of acidogenic supplementation during the prepartum period: 21d (3W) or 28d (4W). One hundred and seventy-seven Holstein cows from a commercial herd were blocked by parity and expected calving date, and randomly allocated to 1 of 4 treatments: 3W-50 (n=42), 3W-150 (n=43), 4W-50 (n=46), and 4W-150 (n=46). Data were analyzed using the MIXED procedure of SAS, containing the fixed effects of level, duration, parity, time, and their interactions, and the random effects of block and cow nested within the treatment. Urine pH was lower at -150 level (5.83 vs.  $6.96 \pm 0.07$ ;  $P < 0.01$ ) and, as expected, acidogenic supplementation duration was lower at 3W (25.45 vs.  $31.48 \pm 0.62$  d;  $P < 0.01$ ). Cows tended to lose more weight during the postpartum period when fed for 4W (47.1 vs.  $32.7 \pm 6.53$  kg;  $P = 0.07$ ), and milk fat content tended to be higher when cows were supplemented with 4W (3.95 vs.  $3.75 \pm 0.08\%$ ;  $P = 0.06$ ). Other variables such as body condition score, colostrum yield and Brix, milk composition, and somatic cell count did not differ between treatments. There was also no difference for milk yield for duration (46.76 vs.  $46.90 \pm 0.84$  kg/d;  $P = 0.91$ ) or level (47.18 vs.  $46.47 \pm 0.84$  kg/d;  $P = 0.55$ ). Regarding metabolite measurements, higher concentrations of gamma glutamyl transferase (27.4 vs.  $29.4 \pm 0.63$  U/L;  $P = 0.01$ ) were observed in the 4W duration and smaller albumin concentrations in the -150 level (3.29 vs.  $3.19 \pm 0.03$  g/dL;  $P = 0.02$ ). There was also a trend towards smaller concentrations of glucose measured by glucometer in postpartum blood at 3W duration (2.57 vs.  $2.67 \pm 0.04$  mM;  $P = 0.09$ ) and at the -50 level (2.57 vs.  $2.68 \pm 0.04$  mM;  $P = 0.05$ ). No differences were found for the concentrations of aspartate amino transferase, triacylglycerol, cholesterol, globulin, bilirubin, glucose, non-esterified fatty acid and beta-hydroxybutyrate in the blood. Regarding postpartum total calcium, there was also no difference for duration (1.90 vs.  $1.92 \pm 0.015$  mM;  $P = 0.44$ ) or level (1.90 vs.  $1.92 \pm 0.015$  mM;  $P = 0.30$ ). There were trends towards a reduction in the risk of retained placenta (20.7 vs.  $11.4 \pm 4.0\%$ ;  $P = 0.10$ ) and subclinical hypocalcemia (82.7 vs.  $71.7 \pm 4.8\%$ ;  $P = 0.09$ ) at level -150 level. Productive performance, metabolism and health were modestly influenced by manipulation of DCAD levels and durations, at least within the recommended range of 4 to 3 weeks and -50 to -150 mEq/kg DM level of acidogenic supplementation in the prepartum diet.

**Keywords:** calcium, DCAD, metabolites, transition period, urinary pH

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Índice de Temperatura e Umidade (THI) dentro do barracão nível -50 durante o pré-parto. 2688 gravações em intervalos de 60 minutos. THI:  $69,4 \pm 4,67$  (média  $\pm$  DP). Proporção THI > 68: 58,6% das vezes. Temperatura:  $21,8 \pm 4,01$  °C. Umidade:  $78,9 \pm 11,21\%$ . .....88
- Figura 2. Índice de Temperatura e Umidade (THI) dentro do barracão nível -150 durante o pré-parto. 2688 gravações em intervalos de 60 minutos. THI:  $69,0 \pm 4,59$  (média  $\pm$  DP). Proporção THI > 68: 53,1% das vezes. Temperatura:  $21,3 \pm 3,93$  °C. Umidade:  $82,1 \pm 11,62\%$ . .....88
- Figura 3. pH de urina em relação ao parto, de vacas leiteiras alimentadas com dois níveis de DCAD negativa (-50 ou -150 mEq/kg de MS) e dois períodos de duração (3W ou 4W) da suplementação acidogênica no pré-parto. A média ajustada e o EPM foram: 3W-50 =  $7,04 \pm 0,096$ ; 3W-150 =  $5,82 \pm 0,099$ ; 4W-50 =  $6,87 \pm 0,083$ ; e 4W-150 =  $5,84 \pm 0,081$ . Efeito da duração ( $P = 0,38$ ), de nível ( $P < 0,01$ ) e interações entre duração, nível e dia ( $P = 0,42$ ). As barras de erro representam o EPM. ....90
- Figura 4. Produção de leite (kg/d) nas primeiras 14 semanas de lactação, de vacas leiteiras alimentadas com dois níveis de DCAD negativa (-50 ou -150 mEq/kg de MS) e dois períodos de duração (3W ou 4W) da suplementação acidogênica no pré-parto. A média ajustada e o EPM foram: 3W-50 =  $47,4 \pm 1,51$ ; 3W-150 =  $46,1 \pm 1,47$ ; 4W-50 =  $46,9 \pm 1,48$ ; 4W-150 =  $46,8 \pm 1,47$  kg/d. Interações entre duração, nível e dia ( $P = 0,57$ ). As barras de erro representam o EPM.....94
- Figura 5. Concentrações de gordura (A), proteína (B) e lactose (C) do leite durante o pós-parto de vacas leiteiras alimentadas com dois níveis de DCAD negativa (-50 ou -150 mEq/kg de MS) e dois períodos de duração (3W ou 4W) da suplementação acidogênica no pré-parto. (A) interações entre duração, nível e semana ( $P = 0,82$ ); (B) interações entre duração, nível e semana ( $P = 0,56$ ); e (C) interações entre duração, nível e semana ( $P = 0,07$ ). As barras de erro representam o EPM. ....95
- Figura 6. Concentrações das enzimas GGT (A) e AST (B) no soro de vacas leiteiras alimentadas com dois níveis de DCAD negativa (-50 ou -150 mEq/kg de MS) e dois períodos de duração (3W ou 4W) da suplementação acidogênica no pré-parto. (A) interações pré-parto entre duração e nível

( $P = 0,56$ ); interações pós-parto entre duração, nível e dia ( $P = 0,50$ ). (B) interações pré-parto entre duração e nível ( $P = 0,93$ ); interações pós-parto entre duração, nível e dia ( $P = 0,58$ ). As barras de erro representam o EPM.

.....99

Figura 7. Concentrações de TAG (A) e colesterol (B) no soro de vacas leiteiras alimentadas com dois níveis de DCAD negativa (-50 ou -150 mEq/kg de MS) e dois períodos de duração (3W ou 4W) da suplementação acidogênica no pré-parto. (A) interações pré-parto entre duração e nível ( $P = 0,12$ ); interações pós-parto entre duração, nível e dia ( $P = 0,64$ ). (B) interações pré-parto entre duração e nível ( $P = 0,19$ ); interações pós-parto entre duração, nível e dia ( $P = 0,04$ ). As barras de erro representam o EPM.

..... 100

Figura 8. Concentrações de albumina (A) e globulina (B) no soro de vacas leiteiras alimentadas com dois níveis de DCAD negativa (-50 ou -150 mEq/kg de MS) e dois períodos de duração (3W ou 4W) da suplementação acidogênica no pré-parto. (A) interações pré-parto entre duração e nível ( $P = 0,41$ ); interações pós-parto entre duração, nível e dia ( $P = 0,91$ ). (B) interações pré-parto entre duração e nível ( $P = 0,54$ ); interações pós-parto entre duração, nível e dia ( $P = 0,99$ ). As barras de erro representam o EPM.

..... 101

Figura 9. Concentrações de bilirrubina no soro de vacas leiteiras alimentadas com dois níveis de DCAD negativa (-50 ou -150 mEq/kg de MS) e dois períodos de duração (3W ou 4W) da suplementação acidogênica no pré-parto. Interações pré-parto entre duração e nível ( $P = 0,05$ ); interações pós-parto entre duração, nível e dia ( $P = 0,17$ ). As barras de erro representam o EPM.

..... 102

Figura 10. Concentrações de glicose (A) e AGNE (B) no soro de vacas leiteiras alimentadas com dois níveis de DCAD negativa (-50 ou -150 mEq/kg de MS) e dois períodos de duração (3W ou 4W) da suplementação acidogênica no pré-parto. (A) interações pré-parto entre duração e nível ( $P = 0,59$ ); interações pós-parto entre duração, nível e dia ( $P = 0,24$ ). (B) interações pré-parto entre duração e nível ( $P = 0,52$ ); interações pós-parto

entre duração, nível e dia ( $P = 0,88$ ). As barras de erro representam o EPM.  
..... 103

Figura 11. Concentrações de tCa (A) no soro e iCa (B) de vacas leiteiras alimentadas com dois níveis de DCAD negativa (-50 ou -150 mEq/kg de MS) e dois períodos de duração (3W ou 4W) da suplementação acidogênica no pré-parto. (A) interações entre duração, nível e dia ( $P = 0,51$ ). (B) interações entre duração, nível e dia ( $P = 0,31$ ). As barras de erro representam o EPM.  
..... 104

Figura 12. Concentrações de glicose (A) e BHB (B) medidos durante o pós-parto de vacas leiteiras alimentadas com dois níveis de DCAD negativa (-50 ou -150 mEq/kg de MS) e dois períodos de duração (3W ou 4W) da suplementação acidogênica no pré-parto. Mensuração realizada através de glicosímetro portátil e tiras reagentes. (A) interações entre duração, nível e dia ( $P = 0,35$ ). (B) interações entre duração, nível e dia ( $P = 0,25$ ). As barras de erro representam o EPM..... 105

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição dos ingredientes das dietas pré e pós-parto.....	86
Tabela 2. Composição dos nutrientes das dietas pré e pós-parto.....	87
Tabela 3. Descrição dos animais inscritos, motivos de exclusão e animais incluídos nas análises estatísticas de acordo com a paridade .....	89
Tabela 4. Efeitos da duração e do nível de DCAD da dieta acidogênica do pré-parto no pH de urina, duração dos períodos pré e pós-parto e duração da gestação.....	91
Tabela 5. Efeitos da duração e do nível de DCAD da dieta acidogênica do pré-parto no peso corporal e escore de condição corporal e peso da cria de vacas leiteiras .....	92
Tabela 6. Efeitos da duração e do nível de DCAD da dieta acidogênica no pré-parto no desempenho produtivo de vacas leiteiras .....	93
Tabela 7. Efeitos da duração e do nível de DCAD da dieta acidogênica no pré-parto na concentração de metabólitos sanguíneos no dia -7 em relação ao parto esperado .....	97
Tabela 8. Efeitos da duração e do nível de DCAD da dieta acidogênica no pré-parto na concentração de metabólitos sanguíneos no pós-parto e na calcemia .....	98
Tabela 9. Efeitos da duração e do nível de DCAD da dieta acidogênica no pré-parto na saúde e permanência no rebanho de vacas leiteiras .....	106

## LISTA DE ABREVIATURAS

AGNE – Ácidos graxos não esterificados  
AST – Aspartato amino transferase  
BHB – Beta-hidroxibutirato  
CCS – Contagem de células somáticas  
CMS – Consumo de matéria seca  
DCAD – Diferença catiônica-aniônica da dieta  
DEL – Dias em leite  
ECC – Escore de condição corporal  
GGT – Gama glutamil transferase  
HC – Hipocalcemia clínica  
HSC – Hipocalcemia subclínica  
HSCa – Hipocalcemia subclínica atrasada  
HSCp – Hipocalcemia subclínica persistente  
HSCt – Hipocalcemia subclínica transitória  
iCa – Cálcio ionizável  
MS – Matéria seca  
NUL – Nitrogênio ureico no leite  
PTH – Hormônio da paratireoide  
TAG – Triacilglicerol  
tCa – Cálcio total  
TMR – Dieta total misturada

## SUMÁRIO

<b>1 CAPÍTULO I. CONSIDERAÇÕES GERAIS .....</b>	<b>16</b>
<b>1.1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>1.2 DESENVOLVIMENTO.....</b>	<b>17</b>
1.2.1 Período de transição.....	17
1.2.2 Metabolismo de cálcio .....	18
1.2.3 Diferença cátion-aniônica da dieta .....	22
1.2.4 Avaliação do pH de urina.....	26
1.2.5 Hipocalcemia subclínica .....	27
1.2.6 Fatores que predispõe à hipocalcemia .....	30
1.2.7 Duração do período no pré-parto .....	31
<b>1.3 CONCLUSÕES .....</b>	<b>32</b>
<b>1.4 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>33</b>
<b>2 CAPÍTULO II. EFEITO DO NÍVEL E DURAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO ACIDOGÊNICA DA DIETA NO PRÉ-PARTO NA PRODUÇÃO, METABOLISMO E SAÚDE DE VACAS LEITEIRAS .....</b>	<b>44</b>
<b>2.1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>46</b>
<b>2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>48</b>
2.2.1 <i>Delineamento experimental e tratamentos</i> .....	48
2.2.2 <i>Vacas, alojamento e dieta</i> .....	49
2.2.3 <i>Manejo durante o parto</i> .....	50
2.2.4 <i>Coleta e análise de amostras</i> .....	51
2.2.5 <i>Peso corporal e ECC</i> .....	52
2.2.6 <i>Amostragem e processamento do sangue</i> .....	53
2.2.7 <i>Categorização de doenças e sobrevivência</i> .....	54
2.2.8 <i>Análise estatística</i> .....	55
<b>2.3 RESULTADOS .....</b>	<b>56</b>
2.3.1 <i>Desempenho produtivo</i> .....	57
2.3.2 <i>Metabólitos sanguíneos</i> .....	58
2.3.3 <i>Saúde e sobrevivência</i> .....	59
<b>2.4 DISCUSSÃO .....</b>	<b>59</b>
<b>2.5 CONCLUSÕES .....</b>	<b>65</b>

<b>2.6 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>66</b>
<b>3 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>71</b>
<b>4 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>72</b>

## 1 CAPÍTULO I. CONSIDERAÇÕES GERAIS

### 1.1 INTRODUÇÃO

O período de transição representa um dos maiores desafios da cadeia produtiva leiteira e está diretamente ligado com o lucro da atividade. Segundo Leblanc (2010), até 50% das vacas leiteiras apresentam alguma desordem ou doença no período pós-parto imediato. O bem-estar da vaca no pré-parto pode influenciar a futura lactação e contribuir para um bom desempenho produtivo e reprodutivo. É um período que demanda alta quantidade de energia, proteínas e minerais, que auxiliarão no crescimento do feto no terço final da gestação (House e Bell, 1993), e na futura produção de colostro e leite, em um momento que o consumo de matéria seca (CMS) pode estar deprimido (Drackley, 1999; NRC, 2001).

O cálcio (Ca) é um mineral exigido em grandes quantidades pelo animal no período de transição. Quase a totalidade deste mineral se encontra nos ossos e necessita de estratégias que aumentem a sua mobilização e aumente a sua absorção intestinal, deixando-o biodisponível para o animal. A baixa concentração deste mineral no sangue é definida como hipocalcemia, uma doença metabólica que na sua forma subclínica (HSC), acomete mais de 50% das vacas leiteiras (Reinhaedt et al., 2011). A HSC também predispõe o surgimento de demais doenças nas primeiras semanas de lactação e a sua associação com a produção de leite ainda é controversa e motivo de muitas pesquisas. Além disso, a HSC está associada a uma diminuição da taxa de concepção e redução do desempenho reprodutivo de vacas leiteiras (Caixeta et al., 2017).

De forma geral, uma estratégia bem documentada na literatura é a adoção de dietas acidogênicas, com diferença cátion-aniônica da dieta (DCAD) negativa no pré-parto, que promove o aumento da concentração sérica de Ca (Santos et al., 2019). A

DCAD negativa tem o objetivo de melhorar o desempenho e pode influenciar no prolongamento da HSC no pós-parto. A faixa de DCAD recomendada para reduzir o risco de hipocalcemia é de -50 a -150 mEq/kg de matéria seca (MS, NASEM, 2021). Porém, o DCAD ideal para melhorar o desempenho e a saúde de vacas multíparas ainda não foi determinado dentro do intervalo acima citado (Santos et al., 2019).

A duração da suplementação acidogênica durante o pré-parto já foi estudada por alguns pesquisadores. Os ciclos de suplementação de duração de 42 dias em comparação com 21 dias, resultaram em diminuição da produção de leite e do desempenho reprodutivo de vacas leiteiras multíparas (Lopera et al., 2018). Em um outro estudo observacional, foram detectadas associações entre a duração do pré-parto com produção de leite, saúde, reprodução e sobrevivência de vacas leiteiras multíparas (Vieira Neto et al., 2021). Os autores concluíram no estudo que a duração ideal do pré-parto varia entre 21 à 28 dias.

## **1.2 DESENVOLVIMENTO**

### **1.2.1 Período de transição**

O período de transição é definido classicamente como o intervalo de três semanas antes a três semanas após o parto (Grummer, 1995; Drackley, 1999). Em um curto período de tempo, a vaca passa por vários desafios, desde mudanças nutricionais, fisiológicas e endócrinas (Hayirli et al., 2002), que preparam o animal para o parto e a lactação.

Toda vaca leiteira no periparto passa por um período de resistência à insulina, com redução do consumo de MS, com conseqüente balanço nutricional negativo,

lipólise e perda de peso no início da lactação. Ainda são observados neste período, estresse oxidativo dos tecidos, sobrecarga hepática, hipocalcemia nos primeiros dias pós-parto, função imunológica deprimida no periparto e risco de infecção bacteriana do útero (metrite) até três semanas pós-parto (Leblanc, 2010; Trevisi e Minuti, 2017). Todas estas situações ocorrem devido à mudança do estado gestante não lactante, para o estado lactante e não gestante (Goff e Horst, 1989).

Com o avançar do terço final da gestação e a proximidade do parto, a concentração de insulina diminui e o hormônio do crescimento (GH) aumenta, com picos de ambos os hormônios no dia do parto (Kunz et al., 1985). As concentrações de tiroxina (T4) aumentam e diminuem 50% no dia do parto (Kunz et al., 1985). O estrógeno aumenta, e no dia do parto diminui bruscamente (Chew et al., 1979). Em relação a glicose plasmática, ocorre aumento no dia do parto, com diminuição logo após o parto (Kunz et al., 1985). A progesterona (P4) se mantém elevada para manutenção da gestação, mas diminui dois dias antes do parto (Chew et al., 1979).

Tendo em vista toda importância do período de transição, as propriedades leiteiras têm investido no bem-estar dos animais. A recomendação usual aos produtores é formar um lote pré-parto, com inclusão dos animais 28 a 21 dias antes da data prevista do parto e fornecer uma dieta acidogênica visando garantir um melhor desempenho dos animais.

### **1.2.2 Metabolismo de cálcio**

O Ca é um macromineral exigido pelo organismo animal e a sua maior parte se encontra nos ossos. Cerca de 99% do Ca se encontra na matriz óssea, na forma de cristais de hidroxiapatita que são formados por fosfato de cálcio (Wilkens et al.,

2012; Junqueira e Carneiro, 2013). Os outros 1% estão localizados nos fluidos extracelulares do corpo (NRC, 2001). Nos fluidos corporais, o Ca pode ser encontrado na forma livre ou ionizável, que é a forma biologicamente ativa, a qual representa 50%. Outros 45% se encontram ligados à proteína albumina e os 5% restantes estão complexados com fosfatos e bicarbonatos (Hansen et al., 2000; Sarwar et al., 2000). A concentração de tCa normal no organismo do animal adulto e saudável é de 2,2 a 2,5 mmol/L (Martinez et al., 2012).

O tecido ósseo é formado por uma matriz óssea resistente, cuja porção inorgânica é composta por fosfato e cálcio e, a porção orgânica, por colágeno. Este tecido possui três tipos de células especializadas: os osteoblastos, os osteócitos e os osteoclastos. Os osteoblastos são responsáveis pela síntese da porção orgânica da matriz. Já os osteócitos, que são os osteoblastos maturados, estão localizados no interior da matriz e estão destinados à manutenção da matriz óssea. Por fim, os osteoclastos são células maiores e multinucleadas e estão associados à reabsorção óssea. A reabsorção óssea é a mobilização do tecido ósseo por enzimas especializadas, que tornam os minerais disponíveis. Desta forma, ocorre a transferência do Ca do tecido ósseo para o sangue (Junqueira e Carneiro, 2013).

Segundo o NRC (2001), o mineral Ca tem várias funções no organismo. O Ca extracelular é essencial para a formação dos tecidos esqueléticos, transmissão de impulsos do sistema nervoso, contração dos músculos esquelético e cardíaco, coagulação do sangue, além de ser um componente do leite. O Ca intracelular está envolvido na atividade enzimática das células como segundo mensageiro. O Ca também é importante na contração da musculatura lisa (Santos et al., 2019) e na

atividade imunológica. Ele ativa a ação dos neutrófilos, células efetoras imunes inatas (Zhang et al., 2019), importantes no combate da infecção (Martinez et al., 2012).

A vaca no periparto tem aumento repentino na demanda de Ca para a produção de colostro e lactogênese (Horst et al., 2005; Goff, 2008). Segundo Rodney et al. (2018), quanto maior a produção de colostro de uma vaca, maior é a quantidade de Ca secretado. O colostro é rico em Ca, com uma quantidade de 2,0 a 3,0 g/L (Vieira Neto et al., 2017a; Lopera et al., 2018; Rodney et al., 2018). Já segundo o novo NASEM (2021) a concentração de Ca no colostro é de 2,1 g/L na raça Holandês e de 2,4 g/L na raça Jersey. Assim, o requerimento de Ca de uma vaca da raça Holandês antes do parto, é aproximadamente 20 a 30 g/dia de Ca absorvível (NASEM, 2021). Alguns animais não conseguem se adaptar com esta perda de Ca abrupta no colostro, e podem desenvolver hipocalcemia. A perda de Ca com colostrogênese e início da lactação é provavelmente o principal fator para ocorrência da doença (Goff et al., 2002). Vacas multíparas têm risco aumentado porque elas produzem mais colostro e leite que animais de primeira lactação (Rodney et al., 2018).

A concentração de Ca sérico é regulada pelos hormônios calcitonina produzida pelas células C da tireoide, paratormônio (PTH) produzido pelas glândulas da paratireoide e pela vitamina D na sua forma ativa. Em baixas concentrações de Ca no sangue, o PTH e a vitamina D aumentam a entrada de Ca no sangue e no *pool* extracelular, enquanto que a calcitonina atua na redução do Ca (Goff et al., 1991). Ao estímulo do PTH, o Ca solúvel pode rapidamente ser transferido para o *pool* de Ca extracelular (GOFF, 1991). É necessário o estímulo de 48 horas do PTH, para que a reabsorção óssea aumente significativamente (Goff et al., 1986). O PTH também estimula a enzima  $1\alpha$ -hidroxilase, ativando a vitamina D nos túbulos renais (Goff,

1991). A vitamina D é um potente hormônio calciotrópico em vacas lactantes (Vieira Neto et al., 2017b).

Os ruminantes utilizam a vitamina D<sub>3</sub> (colecalfiferol, Goff et al., 1991), sintetizada após irradiação ultravioleta ou proveniente da dieta. A vitamina D<sub>3</sub> passa pelo fígado, no qual é hidroxilada no carbono 25, pela enzima 25-hidroxilase, formando a 25-hidroxi-colecalfiferol (calcidiol), que é a principal forma de vitamina D circulante. Nos rins, o calcidiol, sob a influência do PTH, é novamente hidroxilada no carbono 1, pela enzima 1- $\alpha$ -hidroxilase, formando a 1-25-diidroxi-colecalfiferol (calcitriol), forma ativa da vitamina D (Horst et al., 1994).

O calcitriol por sua vez, atua em sinergismo com o PTH para estimular a reabsorção óssea osteoclástica (Goff et al., 2014) e para diminuir a reabsorção renal de Ca, via inibição de TRPV5 (potencial receptor transitório do canal vaniloide do tipo 5, Hoenderop et al., 1999; Martín-Tereso e Martens, 2014). Conseqüentemente, no pré-parto ocorre o aumento da perda de Ca na urina como forma de ajuste de pH sanguíneo. Entretanto, o calcitriol atua principalmente nos enterócitos e estimula o transporte ativo de Ca dietético via aumento de TRPV6 (potencial receptor transitório do canal vaniloide do tipo 6, Peng et al., 1999; Martín-Tereso e Martens, 2014). O transporte ativo, também conhecido como transporte transcelular de Ca, é constituído pela mobilidade do Ca através da célula epitelial. O processo é constituído por três etapas: primeiro o Ca entra na célula através do canal TRPV6 (Peng et al., 1999); em seguida, no citosol da célula o Ca se liga à proteína calbidina-D9 (Bronner, 1987), no qual é translocado para a membrana basolateral da célula; e por fim, extruído pela proteína PMCa1b (membrana plasmática Ca ATPase isoforma 1b, Abel et al., 2003), sendo absorvido.

O requerimento dietético adequado de potássio (K) e sódio (Na) no pré-parto é essencial para melhorar a homeostase do Ca durante o período periparturiente e reduzir o risco de hipocalcemia. A utilização de forragens com alto teor de K na dieta pré-parto pode provocar uma alcalose metabólica (ou prevenir a ocorrência de uma ligeira acidose metabólica) e impedir o aumento das concentrações de Ca no pós-parto, aumentando a incidência de hipocalcemia (NRC, 2021). A silagem de milho tem menor probabilidade de acumular K, podendo ser um alimento prático e palatável, usado como fonte de fibra e amido no pré-parto e contribui no ajuste do DCAD (Beede, 1992). O baixo teor de Mg pode diminuir a secreção de PTH e também reduzir a concentração de Ca (NRC, 2021), sendo exigido em % da MS da dieta pré-parto, entre 0,35 a 0,40%.

### **1.2.3 Diferença cátion-aniônica da dieta**

A suplementação de dietas acidogênicas para vacas leiteiras no pré-parto é um método que se popularizou nas últimas décadas para melhorar a homeostase (equilíbrio fisiológico constante) do Ca e reduzir o risco de hipocalcemia, uma doença conhecida desde o século passado. Ender e Dishington (1971) observaram quase que acidentalmente a redução da hipocalcemia clínica em vacas alimentadas com forragens tratadas com ácidos. Eles concluíram que dietas acidogênicas têm a capacidade de estimular o aumento de Ca no sangue e, portanto, reduzir a incidência de hipocalcemia clínica. Até então, a ferramenta utilizada na época para reduzir a incidência de hipocalcemia pós-parto era a diminuição dos níveis de cálcio e fósforo dietéticos no período pré-parto (Thilsing-Hansen et al., 2002). Porém, a estratégia nem sempre aumentava os níveis de PTH, com incremento no aumento dos níveis de cálcio

sanguíneo (Cavalieri e Santos, 2001). Hoje sabemos que para esta prática ser efetiva, teríamos que reduzir a concentração dietética de Ca para níveis muito baixos ( $< 0,2\%$  MS), o que na prática é muito difícil de ser alcançado, devido a inclusão de forragem e demais ingredientes na dieta que supre a demanda de Ca.

Um pouco mais tarde, Block (1984) trouxe o conceito para a América do Norte e introduziu a teoria do balanço ácido-base na dieta. A estratégia é conhecida como “diferença cátion-aniônica da dieta” (DCAD), até hoje utilizada na formulação de dietas no pré-parto de vacas leiteiras. Seus achados comprovaram que além da redução da incidência de hipocalcemia clínica, houve também um aumento na produção de leite.

As intervenções são a manipulação das concentrações de íons fortes na dieta para alterar o DCAD pré-parto. Os íons fortes são: os cátions sódio e potássio e os ânions enxofre e cloro (Oetzel, 2017). O objetivo de alimentar vacas com dietas acidogênicas no pré-parto é induzir uma acidose metabólica compensada que melhora os níveis de Ca circulantes no sangue, enquanto ocorre a síntese de colostro e leite (Charbonneau et al., 2006; Lean et al., 2006). A acidose metabólica compensada consiste na redução do pH e bicarbonato sanguíneos com permanência da pressão parcial de gás carbônico ( $p\text{CO}_2$ ) dentro da faixa esperada (35 a 45 mmHg, Cavalieri e Santos, 2001).

Os ânions acidificantes mais utilizados são os sais de cloreto e sulfato de amônio, cálcio e magnésio (NRC, 2001). Os sais de cloreto são mais acidogênicos do que os sais de sulfato (Goff et al., 1997; Oetzel, 1991; Tucker et al., 1991). O ácido clorídrico, por exemplo, também obteve respostas positivas como fonte de ânions na prevenção da hipocalcemia, sendo a fonte de ânions fortes mais potente disponível (Ender e Dishington, 1967; Goff e Horst, 1998).

Afim de tornar a DCAD negativa, os nutricionistas aumentam a inclusão de ânions fortes, com uma combinação de cloretos e sulfatos, e diminuem a inclusão de Na e K na dieta, para atingir a acidificação sanguínea adequada do animal (Ender et al., 1971; Block, 1984). Ao mensurar o pH de urina é possível ajustar a quantidade de mineral acidogênico fornecido e fazer pequenos ajustes até que o pH urinário adequado seja alcançado. A equação mais utilizada é sugerida por Ender et al. (1971):  $DCAD = (Na^+ + K^+) - (Cl^- + S^{2-})$ , dado em mEq/kg de matéria seca (MS) da dieta.

A dieta acidogênica, como descrita anteriormente, induz acidose metabólica compensada, e aumenta a síntese e secreção do PTH (Goff et al., 2014), além de alterar a conformação do receptor deste hormônio na célula, tornando a sinalização mais forte. O PTH estimula a síntese de vitamina D ativa (1-25-diidroxi-vitamina D) nos rins (Goff et al., 2014). Juntos, estes hormônios ajudam a vaca a repor o Ca extracelular perdido principalmente no colostro e no leite, retirando o Ca da matriz óssea e aumentando a absorção de Ca da dieta no pós-parto. Portanto, a dieta acidogênica ajuda a manter a homeostase do Ca durante o período de transição (Horst et al., 1997; Goff, 2008).

A suplementação com dieta acidogênica durante o pré-parto pode reduzir o CMS. Algumas décadas atrás, a teoria proposta para explicar esta redução, inclui a falta de palatabilidade das fontes de ânions utilizadas (Oetzel e Barmore, 1993). Uma outra teoria é o desconforto do próprio organismo criado pela acidose metabólica não compensada, quando se tem um excesso de ânions na dieta (Vagnoni e Oetzel, 1998). Entretanto, para avaliar estas duas propostas, um estudo foi realizado e os autores concluíram que a redução do CMS é provocada pela acidose metabólica e não pela

suplementação de produtos acidogênicos e a falta de palatabilidade destes produtos (Zimpel et al., 2018).

O nível de Ca na dieta pré-parto é questionável. Alguns estudos demonstram que o uso de dietas com Ca intermediário, em torno de 1,0% na MS, aumenta o risco de hipocalcemia (Lean et al., 2006). Com o uso de dietas acidogênicas, o requerimento de Ca da dieta pré-parto é irrelevante (Santos et al., 2019; Lean et al., 2019).

O fornecimento de dietas acidogênicas para novilhas tem sido questionado ultimamente. Existem poucos estudos com nulíparas (Santos et al., 2019; Lean et al., 2019). Porém, estudos recentes têm demonstrado que a dieta acidogênica não funciona para esta categoria animal. Para confirmar isto, Zimpel et al. (2021), ao alimentar nulíparas com níveis de DCAD de +200, -50 e -150 mEq/kg de MS no pré-parto, não observaram melhora no desempenho produtivo. Todavia, a dieta acidogênica proporcionou efeitos positivos na reprodução.

Em um outro estudo de campo em quatro fazendas no Canadá, no qual foi atribuído DCAD de +105 ou -108 mEq/kg de MS, também não houve benefício para nulíparas (Couto Serrenho et al., 2021). Segundo Moore et al. (2000), independentemente do nível de DCAD pré-parto, as novilhas mantêm a homeostase do Ca durante o período de transição.

De forma geral, os estudos demonstram que o fornecimento de dietas com DCAD negativa diminuem a incidência de HSC (Degaris e Lean, 2008; Goff, 2014) e melhoram o desempenho produtivo e reprodutivo de vacas leiteiras (Martinez et al., 2018b; Couto Serrenho et al., 2021). A redução da DCAD pré-parto aumentou a produção de leite nos primeiros 65 dias em lactação (DEL) em 1,15 kg/d (Lean et al.,

2014). A redução da DCAD de -70 para -180 mEq/kg de MS induziu uma acidose metabólica mais intensa, com aumento do iCa e redução da produção de colostro (Lopera et al., 2018).

Para sustentar esta hipótese, as recentes meta-análises de Santos et al. (2019) e Lean et al. (2019) comprovam que o fornecimento de dietas pré-parto com DCAD negativa funcionam. A recomendação do nível de DCAD negativo não precisa ser inferior a -150 mEq/kg MS, para obter resultados positivos na produção de leite e produção de gordura e proteína no leite (Santos et al., 2019). A DCAD negativa também reduz a incidência de hipocalcemia, retenção de placenta e metrite a partir do aumento da concentração de Ca no sangue, induzido pela dieta acidogênica.

A meta-análise de Lean et al. (2019) também demonstra efeitos positivos na produção de leite e proteína do leite em vacas recém paridas alimentadas com DCAD negativa pré-parto. O conjunto de dados também confirma a redução nos riscos de hipocalcemia, retenção de placenta, metrite e demais doenças no pós-parto imediato.

#### **1.2.4 Avaliação do pH de urina**

A mensuração e avaliação do pH de urina das vacas no pré-parto é uma ferramenta barata e de boa predição do pH sanguíneo. Trata-se de uma medida apropriada do nível de suplementação acidogênica fornecida (Jardon, 1995), sendo possível ajustar a quantidade de mineral acidogênico suplementado. Quanto menor for o nível de DCAD, menor será o pH urinário.

Segundo Goff (2008), para o controle ideal da hipocalcemia subclínica, o pH médio de urina de vacas da raça Holandês deve estar entre 6,2 e 6,8. No entanto, o pH em torno de 6,0 tem sido associado com um melhor metabolismo de Ca pré-parto,

além do melhor desempenho pós-parto em vacas (Degroot et al., 2010; Weich et al., 2013; Leno et al., 2017). Se o pH urinário médio estiver entre 5,0 e 5,5, o excesso de ânions induziu uma acidose metabólica não compensada e as vacas podem reduzir expressivamente o CMS. O pH de urina pode ser medido 48 horas após o fornecimento da dieta acidogênica. As amostras de urina para avaliação devem ser coletadas dos jatos intermediários, para evitar qualquer tipo de sujidade (Goff, 2008).

Segundo a meta-análise de Charbonneau et al. (2006), os resultados confirmam a eficácia da redução da DCAD na diminuição do pH urinário e na incidência de hipocalcemia clínica (HC), conhecida como febre do leite. O pH urinário médio do grupo de vacas em torno de 7,0 parece ser uma boa meta ao alimentar dietas acidogênicas com baixo nível de DCAD (-50 mEq/kg MS). Os resultados também confirmam que a acidificação do pH urinário ao redor de 5,5, pode diminuir o CMS sem benefícios adicionais na prevenção de hipocalcemia.

O pH de urina de vacas em lactação e no período seco (sem suplementação acidogênica) se encontra entre 8,0 e 8,5 (Goff, 2008). De acordo com a meta-análise de Santos et al. (2019), o pH de urina diminuiu de 8,4 com DCAD +300 mEq/kg MS para 5,4 com DCAD -246 mEq/kg MS. À medida que a DCAD pré-parto diminuiu, o mesmo acontece com o pH de urina. Desta forma, para atingir pH urinário de 5,5 a 6,5, vacas multíparas devem ser suplementadas com dietas com DCAD entre -100 a -200 mEq/kg MS.

### **1.2.5 Hipocalcemia subclínica**

A hipocalcemia é uma enfermidade comum em vacas leiteiras no periparto. Como definido anteriormente, a hipocalcemia é a incapacidade na regulação da

concentração de cálcio no sangue. Com isto, as vacas apresentam baixa quantidade de cálcio disponível no organismo (Charbonneau et al., 2006; Lean et al., 2006). A princípio, a hipocalcemia pode ser classificada em clínica (HC) e subclínica de acordo com as concentrações de cálcio sérico total (tCa). Segundo Reinhardt et al. (2011), animais normocalcêmicos possuem concentrações de tCa acima de 8,0 mg/dL, e animais com concentração < 8,0 mg/dL são categorizados com HSC. Entretanto, no estudo de Martinez et al. (2012), vacas com HSC foram categorizadas com concentrações entre 5,0 a 8,6 mg/dL ( $\leq 2,15$  mmol/L). Já animais com HC são caracterizados pela concentração de tCa inferior a 5,0 mg/dL (Goff, 2014), e apresentam paresia (perda completa da função motora) em estágio avançado da doença (Oetzel, 1988).

A incidência de HC em vacas leiteiras no pós-parto é menor que 5%, tipicamente entre 1 e 3% (Goff, 2008). Já a incidência de HSC nos rebanhos americanos (Reinhardt et al., 2011) e brasileiros (Carneiro, 2018) está em torno de 50%, sendo ainda um motivo de muitos estudos.

A HSC é considerada um motivo de preocupação nas propriedades leiteiras. O animal não apresenta sintomatologia, ou seja, representa a grande massa de gelo do “*iceberg*” que está submersa e que não conseguimos visualizar. A incidência de HSC em vacas leiteiras acontece a partir da mensuração de tCa ou iCa. O iCa é analisado a partir da amostra de sangue ainda fresca, podendo ser utilizado um aparelho denominado *i*-STAT (Neves et al., 2017), baseado na concentração de iCa no sangue total  $\leq 1,0$  mM (Oetzel et al., 1988). O tCa se faz através de análise laboratorial do soro da amostra sanguínea centrifugada (Martinez et al., 2012). O valor mais baixo da concentração de tCa no sangue, conhecido como nadir, tipicamente é

observado entre 24 e 36h após o parto (Oetzel, 2004; Martinez et al., 2012). O aumento do risco de doenças e a redução da produção de leite estão associados à persistência da HSC, e não ao nadir da concentração de Ca pós-parto (Caixeta et al., 2017; Neves et al., 2018b).

A fim de classificar os tipos de HSC, McArt e Neves (2020) mediram a concentração plasmática de cálcio total nos quatro primeiros dias em lactação e estratificaram em: normocalcemia – níveis normais de tCa no pós-parto; HSC transitória – níveis de tCa baixos no dia (D1), mas níveis normais no dia (D4); HSC atrasada – níveis de tCa normais no D1, mas níveis baixos no D4; HSC persistente – níveis baixos de tCa nos D1 e D4. Nesse experimento, a produção de leite foi consistentemente maior para vacas categorizadas como HSC transitórias e depois para vacas classificadas como normocalcêmicas. Neves et al. (2018b) observaram que animais com baixa concentração de Ca no primeiro dia pós-parto, produziram 2,6 kg/d de leite a mais nas primeiras 15 semanas de lactação, em comparação com vacas normocalcêmicas. Vacas com HSC transitória produzem mais leite e comem mais do que vacas com HSC crônica (Seely et al., 2020).

É possível que o prolongamento da baixa concentração de Ca sanguíneo (vacas com HSC atrasada e/ou persistente) leva ao surgimento de outras doenças no pós-parto (Oetzel, 1996; Degaris e Lean, 2008; Goff, 2008; Martinez et al., 2012; Neves et al., 2018 a, b), falha no desempenho produtivo e reprodutivo (McArt e Neves, 2020) e aumento na taxa de descarte de vacas leiteiras (Couto Serrenho et al., 2021). A HSC é um fator de risco para as demais doenças no pós-parto imediato (Chapinal et al., 2012; Rodriguez et al., 2017), e animais doentes têm o desempenho reprodutivo comprometido (Carvalho et al., 2019). Animais diagnosticados com HSC crônica (tCa

no sangue  $\leq 2,15$  mmol/L nos dias 1, 2 e 3 de DEL), apresentam menor ciclicidade e menor chance de prenhez no primeiro serviço (Caixeta et al., 2017). A HSC pós-parto reduziu a concepção na primeira inseminação (Venjakob et al., 2017).

Animais hipocalcêmicos apresentam diminuição na contração da musculatura esquelética e lisa, e conseqüente aumento do risco de retenção de placenta e metrite (Satos et al., 2019). Aumento do risco de deslocamento de abomaso (Chapinal et al., 2011) e aumento do risco de cetose (Curtis et al., 1983). Animais em balanço nutricional negativo, associado com o declínio do CMS, também são situações frequentemente detectadas em casos de hipocalcemia (Goff, 2008). Animais com HSC têm diminuição da motilidade intestinal e redução do CMS (Martinez et al., 2014). Vacas com HSC tiveram aumento da incidência de metrite devido à redução das concentrações de neutrófilos no sangue (Martinez et al., 2012).

### **1.2.6 Fatores que predispõe à hipocalcemia**

Alguns fatores podem predispor a ocorrência de hipocalcemia nos rebanhos. A idade do animal é um fator apontado pela literatura. Vacas mais velhas têm maior risco de hipocalcemia devido à diminuição dos receptores de vitamina D no intestino (Horst et al., 1990). Animais mais jovens produzem menos colostro e conseqüentemente menos Ca é drenado do organismo (Rodney et al., 2018). Um outro fator que predispõe a hipocalcemia é a alta produção leiteira, pois vacas e rebanhos de maior produtividade estão sob maior risco.

Outro fator importante é a raça. Animais da raça Jersey possuem 2,4 vezes mais chances de desenvolver hipocalcemia em comparação com vacas da raça Holandês (Lean et al., 2006). Roche e Berry (2006) relataram que, em sistemas de

produção extensivos à pasto, vacas da raça Jersey tiveram 5 vezes mais chances de desenvolver hipocalcemia. Em vacas Jersey, o pH médio de urina deve ser reduzido entre 5,8 e 6,3, para controle eficaz da hipocalcemia (Goff, 2008). Estes animais possuem menos receptores de vitamina D no intestino (Goff et al., 1995), além de secretarem mais cálcio no colostro e no leite (NRC, 2001).

O escore de condição corporal (ECC) também tem sido associado a hipocalcemia. Animais sobrecondicionados possuem maior risco de ter a doença (Heuer et al., 1999). Em vacas leiteiras, o excesso de condição corporal aumenta a sobrecarga hepática e aumenta o risco de esteatose hepática ou fígado gordo (Sejersen et al., 2012). Desta forma, é sugestivo que o precursor de vitamina D é reduzido, o que pode dificultar a manutenção da homeostase do Ca e aumentar o risco de hipocalcemia em vacas gordas. O ECC é uma medida indireta que pode ser feita na fazenda que está correlacionado com o conteúdo de gordura e energia do animal. O ECC ideal ao parto está entre 3,00 e 3,50 (Chebel et al., 2018).

### **1.2.7 Duração do período no pré-parto**

A duração do período de suplementação acidogênica no pré-parto pode definir o desempenho pós-parto de vacas leiteiras. Alguns estudos demonstram que durações mais prolongadas (42 dias) diminuem a produção de leite em vacas multíparas. Lopera et al. (2018) avaliaram dietas acidogênicas (-70 e -180 mEq/kg de MS) com duração da suplementação pré-parto de 21 ou 42 dias de duração. Eles concluíram que os animais no tratamento por 42 dias diminuíram a produção de leite (2,5 kg/d) e reduziram a taxa de prenhez, em comparação com a duração de 21 dias.

Em um estudo observacional realizado nos Estados Unidos, em duas fazendas leiteiras comerciais, os autores avaliaram a associação entre os dias no grupo pré-parto (DGPP) com o desempenho produtivo, reprodutivo e a sobrevivência de vacas da raça Holandês. As durações dos DGPP foram: 7, 28 ou 42 dias. Eles concluíram que a duração de 28 dias foi associada como um período ideal para as vacas passarem pelo grupo pré-parto, com respostas positivas no desempenho produtivo, reprodutivo e na sobrevivência de vacas multíparas (Vieira Neto et al., 2021).

No estudo realizado por Weich et al. (2013), eles compararam vacas na dieta controle com DCAD positivo com dietas com DCAD negativo (-160 mEq/kg de MS), e duração da suplementação acidogênica de 21 ou 42 dias. Os animais com DCAD negativo por 21 ou 42 dias tiveram efeito positivo no CMS, na produção de leite e na homeostase do cálcio, em relação à dieta controle. A duração de três, quatro ou seis semanas de duração da suplementação acidogênica pré-parto (-210 mEq/kg de MS), não resultaram em diferenças na saúde, consumo e produção de leite (Wu et al., 2014).

### **1.3 CONCLUSÕES**

O conhecimento das estratégias de aumento do Ca plasmático e do metabolismo de Ca durante o período de transição é fundamental para o sucesso no desempenho produtivo e reprodutivo de vacas leiteiras. Por este motivo, a prática de suplementação de dietas acidogênicas é uma estratégia efetiva, de adoção crescente e, muito provavelmente, definitiva na prevenção da hipocalcemia em rebanhos leiteiros. Entretanto, o valor exato da DCAD negativa ideal suplementado no período

de transição ainda não foi estabelecido, bem como a duração exata do período de suplementação ainda é motivo de controvérsia.

#### 1.4 REFERÊNCIAS

- ABEL, M. et al. Regulation of the epithelial Ca<sup>2+</sup> channels in small intestine as studied by quantitative mRNA detection. *The American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, v.285, p.G78-G85, 2003.
- BEEDE, D. K. Dietary cation-anion difference: Preventing milk fever. *Feed Management*, v.43, p.28-31, 1992.
- BLOCK, E. Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk fever. *Journal of Dairy Science*, v.67, p.2939-2948, 1984.
- BRONNER, F. Intestinal calcium absorption: Mechanisms and applications. *The Journal of Nutrition*, v.117, p.1347-135, 1987.
- CAIXETA, L. S., OSPINA, P. A., CAPEL, M. B., and NYDAM, D. V. Association between subclinical hypocalcemia in the first 3 days of lactation and reproductive performance of dairy cows, *Theriogenology*. v.94, p.1-7, 2017.
- CARNEIRO, E. W. Efeito do uso de formiato de cálcio via oral no pós-parto imediato sobre a hipocalcemia em vacas leiteiras. Tese de doutorado. Universidade Federal do Paraná – PR. p.134. 2018.
- CARVALHO, M. R. et al. Long-term effects of postpartum clinical disease on milk production, reproduction, and culling of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.102, p.11701-11717, 2019.
- CAVALIERI, F.L.B., e SANTOS, G.T.D. Balanço catiônico-aniônico em vacas leiteiras no pré-parto, 2001.

- CHAPINAL, N. et al. The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. *Journal of Dairy Science*, v.95, p.1301-1309, 2012.
- CHAPINAL, N. et al. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period, *Journal of Dairy Science*, v.94, p.4897-4903, 2011.
- CHARBONNEAU, E., PELLERIN, D. and OETZEL, G. R. Impact of lowering dietary cation-anion difference in nonlactating dairy cows: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, v.89, p.537-548, 2006.
- CHEBEL, R. C., MENDONÇA, L. G. D. and BARUSELLI, P. S. Association between body condition score change during the dry period and postpartum health and performance. *Journal of Dairy Science*, v.101, p.4595-4614, 2018.
- CHEW, B. P., ERB, R. E., FESSLER, J. F., CALLAHAN, C. J., and MALVEN, P. V. Effects of ovariectomy during pregnancy and of prematurely induced parturition on progesterone, estrogens, and calving traits. *Journal of Dairy Science*, v.62, p.557-566, 1979.
- COUTO SERRENHO, R. et al. Controlled trial of the effect of negative dietary cation-anion difference prepartum diets on milk production, reproductive performance, and culling of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. v.104, 2021.
- CURTIS, C. R. et al. Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. *Journal of The American Veterinary Medical Association*, v.183, p.559-561, 1983.
- DEGARIS, P. J., and LEAN, I. J. Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. *The Veterinary Journal*, v.176, p.58-69, 2008.

- DEGROOT, M. A., E. BLOCK, and P. D. FRENCH. Effect of prepartum anionic supplementation on periparturient feed intake, health, and milk production. *Journal of Dairy Science*. 93:5268–5279, 2010.
- DRACKLEY, J.K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *Journal of Dairy Science*, v.82, p.2259-2273, 1999.
- ENDER, F., and DISHINGTON, I. W. Comparative studies on calcium balance levels in parturient cows fed diets inducing and preventing milk fever. Pp. 557A in XVIII th World Veterinary Congress, Vol. II. Paris, 1967.
- ENDER, F., DISHINGTON, I. W. and HELGEBOSTAD, A. Calcium balance studies in dairy cows under experimental induction and prevention of hypocalcaemic paresis puerperalis. *Z. Tierernahr. Futtermittelkd.* v.28, p.233-256, 1971.
- GOFF, J. P. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Veterinary Journal*, v.176, p.50-57, 2008.
- GOFF, J. P., and HORST, R. L. Use of hydrochloric acid as a source of anions for prevention of milk fever. *Journal of Dairy Science*, v.81, p.2874-2880, 1998.
- GOFF, J. P., HORST, R. L. MUELLER, F. J. and MILLER, J. K. Addition of chloride to a prepartal diet high in cations increases 1,25-dihydroxyvitamin D response to hypocalcemia preventing milk fever. *Journal of Dairy Science*, v.74, p.3863-3871, 1991.
- GOFF, J. P., KEHRLI JR., M. E., and HORST, R. L. Periparturient hypocalcemia in cows: Prevention using intramuscular parathyroid hormone. *Journal of Dairy Science*, v.72, p.1182-1187, 1989.

- GOFF, J. P., KIMURA, K., and HORST, R. L. Effect of mastectomy on milk fever, energy, and vitamins A, E, and  $\beta$ -carotene status at parturition. *Journal of Dairy Science*, v.85, p.1427-1436, 2002.
- GOFF, J. P., LIESEGANG, A., and HORST, R. L. Diet-induced pseudohypoparathyroidism: a hypocalcemia and milk fever risk factor. *Journal of Dairy Science*, v.97, p.1520-1528, 2014.
- GOFF, J. P., LITTLEDIKE, E. T., and HORST, R. L. Effect of synthetic bovine parathyroid hormone in dairy cows: Prevention of hypocalcemic parturient paresis. *Journal of Dairy Science*, v.69, p.2278-2289, 1986.
- GOFF, J. P., REINHARDT, T. A., BEITZ, D. C., and HORST, R. L. Breed affects tissue vitamin D receptor concentration in periparturient dairy cows: A milk fever risk factor? *Journal of Dairy Science*, v.78, (Suppl. 1):184, 1995.
- GOFF, J. P., RUIZ, R., and HORST, R. L. Relative acidogenic activity of commonly used anionic salts rethinking the dietary cation-anion difference equations. *Journal of Dairy Science*, v.80, (Suppl. 1):169, 1997.
- 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.
- HANSEN, S. S., JENSEN, A. L., and JORGENSEN, R. J. Evaluation of a Transportable [Ca<sup>++</sup>] and pH Analyser and of the Impact of Different Anticoagulants and Sampling Sites in Cattle. *Journal of Veterinary Medicine*, v.47, p.541-551, 2000.
- HAYIRLI, A., GRUMMER, R. R., NORDHEIM, E. V., and CRUMP, P. M. Animal and dietary factors affecting feed intake during the prefresh transition period in Holsteins. *Journal of Dairy Science*, v.85, p.3430-3443, 2002.

- HEUER, C., SCHUKKEN, Y. H., and DOBBELAAR, P. Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science*, v.82, p.295-304, 1999.
- HOENDEROP, J. G. J. et al. Molecular identification of the apical Ca<sup>2+</sup> channel in 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>-responsive epithelia. *Journal of Biological Chemistry*, v.274, p.8375-8378, 1999.
- HORST, R. L., GOFF, J. P., and REINHARDT, T. A. Adapting to the transition between gestation and lactation: Differences between rat, human and dairy cow. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, v.10, p.141-156, 2005.
- HORST, R. L., GOFF, J. P., and REINHARDT, T. A. Advancing age results in reduction of intestinal and bone 1,25-dihydroxyvitamin D receptor. *Journal of Endocrinology*, v.126, p.1053-1057, 1990.
- HORST, R. L., GOFF, J. P., and REINHARDT, T. A. Calcium and vitamin D metabolism in dairy cow. *Journal of Dairy Science*, v.77, p.1936-1951, 1994.
- HORST, R. L., GOFF, J. P., REINHARDT, T. A., and BUXTON, D. R. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v.80, p.1269-1280, 1997.
- HOUSE, W. A., and BELL, A. W. Mineral accretion in the fetus and adnexa during late gestation in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, v.76, p.2999-3010, 1993.
- JARDON, P. W. Using urine pH to monitor anionic salt programs. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian*, v.17, p.860-862, 1995.
- JUNQUEIRA, L. C. U., e CARNEIRO, J. Tecido ósseo e Histologia básica. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. Cap. 8, p.131-148, 2013.

- KUNZ, P. L., BLUM, J. W., HART, I. C., BICKEL, H., and LANDIS, J. Effects of different energy intakes before and after calving on food intake, performance and blood hormones and metabolites in dairy cows. *Animal Production*, v.40, p.219-231, 1985.
- LEAN, I. J. et al. Influencing the future: Interactions of skeleton, energy, protein and calcium during late gestation and early lactation. *Animal Production Science*, v.54, p.1177-1189, 2014.
- LEAN, I. J., DEGARIS, P. J., MCNEIL, D. M., and BLOCK, E. Hypocalcemia in dairy cows: Meta-analysis and dietary cation anion difference theory revisited. *Journal of Dairy Science*, v.89, p.669-684, 2006.
- LEAN, I. J., SANTOS, J. E. P., BLOCK, E., GOLDBERGER, H. M. Effects of prepartum dietary cation-anion difference intake on production and health of dairy cows: a meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, v.102, p.2103-2133, 2019.
- LEBLANC, S. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *Journal of Reproduction and Development*, v.56(S), p.S29-35, 2010.
- LENO, B. M. C. M., RYAN, T., STOKOL, D., KIRK, K. P., ZANZALARI, J. D. Chapman, and T. R. Overton. Effects of prepartum dietary cation-anion difference on aspects of peripartum mineral and energy metabolism and performance of multiparous Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 100:4604– 4622, 2017.
- LOPERA, C. et al. Effects of level of dietary cation-anion difference and duration of prepartum feeding on performance and metabolism of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.101, p.7907-7929, 2018.

- MARTINEZ, N. et al. Effects of prepartum dietary cation-anion difference and source of vitamin D on dairy cows: Health and reproductive responses. *Journal of Dairy Science*, v.101, p.2563-2578, 2018b.
- MARTINEZ, N. et al. Evaluation of periparturient calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. *Journal of Dairy Science*, v.95, p.7158-7172, 2012.
- MARTÍN-TERESO, J., and MARTENS, H. Calcium and magnesium physiology and nutrition in relation to the prevention of milk fever and tetany (dietary management of macrominerals in preventing disease). *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.30, p.643-670, 2014.
- MCART, J. A. A., and NEVES, R. C. Association of transient, persistent, or delayed subclinical hypocalcemia with early lactation disease, removal, and milk yield in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, v.103, p.690-701, 2020.
- MOORE, S. J. et al. Effects of altering dietary cation-anion difference on calcium and energy metabolism in periparturient cows. *Journal of Dairy Science*, v.83, p.2095-2104, 2000.
- NASEM, 2021. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 8<sup>th</sup> rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- NEVES, R. C. et al. Association of immediate postpartum plasma calcium concentration with early-lactation clinical diseases, culling, reproduction, and milk production in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, v.101, p.547-555, 2018b.
- NEVES, R. C. et al. Risk factors associated with postpartum subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.100, p.3796-3804, 2017.

- NEVES, R. C., LENO, B. M., BACH, K. D., and MCART, J. A. A. Epidemiology of subclinical hypocalcemia in early-lactation Holstein dairy cows: The temporal associations of plasma calcium concentration in the first 4 days in milk with disease and milk production. *Journal of Dairy Science*, v.101, p.9321-9331, 2018a.
- NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- OETZEL, G. R. Diagnosis and management of subacute ruminal acidosis in dairy herds. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, v.33, p.463-480, 2017.
- OETZEL, G. R. Effect of calcium chloride gel treatment in dairy cows on incidence of periparturient diseases. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.209, p.958-961, 1996.
- OETZEL, G. R. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.20, p.651-674, 2004.
- OETZEL, G. R., and BARMORE, J. A. Intake of a concentrate mixture containing various anionic salts fed to pregnant, non-lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.76, p.1617-1623, 1993.
- OETZEL, G. R., FETTMAN, M. J., HAMAR, D. W., OLSON, J. D. Screening of anionic salts for palatability, effects on acid-base status, and urinary calcium excretion in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.74, p.965-971, 1991.
- OETZEL, G. R., OLSON, J. D., CURTIS, C. R., and FETTMAN, M. J. Ammonium chloride and ammonium sulfate for prevention of parturient paresis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.71, p.3302-3309, 1988.

- PENG, J. et al. Molecular cloning and characterization of a channel-like transporter mediating intestinal calcium absorption. *Journal of Biological Chemistry*, v.274, p.22739-22746, 1999.
- REINHARDT, T. et al. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *The Veterinary Journal*, v.188, p.122-124, 2011.
- ROCHE, J. R., and BERRY, D. P. Periparturient climatic, animal, and management factors influencing the incidence of milk fever in grazing systems. *Journal of Dairy Science*, v.89, p.2775-2783, 2006.
- RODNEY, R. M. et al. Effects of prepartum dietary cation-anion difference and source of vitamin D in dairy cows: Vitamin D, mineral, and bone metabolism. *Journal of Dairy Science*, v.101, p.2519-2543, 2018.
- RODRIGUEZ, E. M., ARÍS, A., and BACH, A. Associations between subclinical hypocalcemia and postparturient diseases in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.100 p.7427-7434, 2017.
- SANTOS, J. E. P., LEAN, I. J., GOLDBERGER, H., and BLOCK, E. Meta-analysis of the effects of prepartum dietary cation-anion difference on performance and health of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.102, p.2134-2154, 2019.
- SARWAR, M., ZIA-UL-HASAN, IQBAL, Z. Dietary Cation Anion Balance in the Ruminants I - Effects on Milk Fever. *International Journal of Agriculture & Biology*, v.2, p.151-158, 2000.
- SEELY, C. R. et al. Association of subclinical hypocalcemia dynamics with dry matter intake, milk yield, and blood minerals during the periparturient period. *Journal of Dairy Science*, v.104, p.4692-4702, 2020.

- SEJERSEN, H., SORENSEN, M. T., LARSEN, T., BENDIXEN, E., and INGVARTSEN, K. L. Liver protein expression in dairy cows with high liver triglycerides in early lactation. *Journal of Dairy Science*, v.95, p.2409-2421, 2012.
- THILSING-HANSEN, T., JOGENSEN, R. J., and OSTERGAARD, S. Milk fever control principles: A review. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v.43, p.1-19, 2002.
- TREVISI, E., and MINUTI, A. Assessment of the innate immune response in the periparturient cow. *Research in Veterinary Science*, v.116, p.47-54, 2017.
- TUCKER, W. B. et al. Role of sulfur and chloride in the dietary cation-anion balance equation for lactating dairy cattle. *Journal of Animal Science*, v.69, p.1205-1213, 1991.
- VAGNONI, D. B., and OETZEL, G. R. Effects of dietary cation-anion difference on the acid-base status of dry cows. *Journal of Dairy Science*, v.81, p.1643-1652, 1998.
- VENJAKOB, P. L., BORCHARDT, S., and HEUWIESES, W. Hypocalcemia-Cow-level prevalence and preventive strategies in German dairy herds. *Journal of Dairy Science*, v.100, p.9258-9266, 2017.
- VIEIRA NETO, A., DUARTE, G. A., ZIMPEL, R., THATCHER, W. W., SANTOS, J. E. P. Days in the prepartum group are associated with subsequent performance in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, v.104, p.5964-5978, 2021.
- VIEIRA-NETO, A. et al. Use of calcitriol to maintain postpartum blood calcium and improve immune function in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.100, p.5805-5823, 2017b.
- VIEIRA-NETO, A., GALVÃO, K. N., THATCHER, W. W., and SANTOS, J. E. P. Association among gestation length and health, production, and reproduction in Holstein cows and implications for their offspring. *Journal of Dairy Science*, v.100, p.3166-3181, 2017a.

- WEICH, W., BLOCK, E., and LITHERLAND, N. B. Extended negative dietary cation-anion difference feeding does not negatively affect postpartum performance of multiparous dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.96, p.5780-5792, 2013.
- WILKENS, M. R. et al. Influence of the combination of 25- hydroxyvitamin D-3 and a diet negative in cation-anion difference on peripartal calcium homeostasis of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.95, p.151-164, 2012.
- WU, Z., BERNARD, J. K., ZANZALARI, K. P., CHAPMAN, J. D. Effect of feeding a negative dietary cation-anion difference diet for an extended time prepartum on postpartum serum and urine metabolites and performance. *Journal of Dairy Science*, v.97, p.7133-7143, 2014.
- ZHANG, B. et al. Effects of ORAI calcium release-activated calcium modulator 1 (ORAI1) on neutrophil activity in dairy cows with subclinical hypocalcemia. *Journal of Animal Science*, v.97, p.3326-3336, 2019.
- ZIMPEL, R. et al. Effect of dietary cation-anion difference on acid-base status and dry matter intake in dry pregnant cows. *Journal of Dairy Science*, v.101, p.8461-8475, 2018.
- ZIMPEL, R. et al. Prepartum level of dietary cation-anion difference fed to nulliparous cows: Lactation and reproductive responses. *Journal of Dairy Science*, v.104, p.11699-11714, 2021.

## **2 CAPÍTULO II. EFEITO DO NÍVEL E DURAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO ACIDOGÊNICA DA DIETA NO PRÉ-PARTO NA PRODUÇÃO, METABOLISMO E SAÚDE DE VACAS LEITEIRAS**

### **SUMÁRIO INTERPRETATIVO**

**Efeito do nível e duração da suplementação acidogênica da dieta no pré-parto na produção, metabolismo e saúde de vacas leiteiras.** *Por Carvalho et al.* A manipulação do nível -50 ou -150 mEq/kg de MS da diferença cátion-aniônica da dieta (DCAD) e da duração de 21 ou 28 dias do período de suplementação acidogênica no pré-parto não afetou o desempenho produtivo, o metabolismo e a saúde de vacas leiteiras multíparas da raça Holandês em rebanho comercial.

### **CABEÇALHO**

#### **DURAÇÃO E NÍVEL DE DCAD PRÉ-PARTO PARA VACAS LEITEIRAS**

**Efeito do nível e duração da suplementação acidogênica da dieta no pré-parto na produção, metabolismo e saúde de vacas leiteiras**

J. T. R. Carvalho<sup>1</sup>; J. H. Carneiro<sup>1</sup>; J. C. S. Lourenço<sup>1</sup>; L. S. Nogueira<sup>1</sup>; R. Zimpel<sup>2</sup>; V. B. Carvalho<sup>3</sup>; A. Vieira-Neto<sup>4</sup>; R. Almeida<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Paraná, Departamento de Zootecnia, Curitiba, PR, Brasil

<sup>2</sup>DSM – Nutritional Products, São Paulo, SP, Brasil

<sup>3</sup>Phibro Animal Health Corporation, Campinas, SP, Brasil

<sup>4</sup>Merck Animal Health, Colorado Springs, CO, Estados Unidos

\*Autor correspondente: R. Almeida. Universidade Federal do Paraná, Departamento de Zootecnia, Curitiba, PR, Brasil. E-mail: ralmeida@ufpr.br

### **ABSTRACT**

The objectives were to evaluate the effects of feeding diets with 2 levels of negative dietary cation-anion differences (DCAD) during the last 4 or 3 weeks of gestation on performance, metabolism, and health in dairy cows. The experiment had a 2 x 2 factorial design, with 2

levels of negative DCAD: -50 or -150 mEq/kg DM, and 2 durations of acidogenic supplementation during the prepartum period: 21d (3W) or 28d (4W). One hundred and seventy-seven Holstein cows from a commercial herd were blocked by parity and expected calving date, and randomly allocated to 1 of 4 treatments: 3W-50 (n=42), 3W-150 (n=43), 4W-50 (n=46), and 4W-150 (n=46). Data were analyzed using the MIXED procedure of SAS, containing the fixed effects of level, duration, parity, time, and their interactions, and the random effects of block and cow nested within the treatment. Urine pH was lower at -150 level (5.83 vs.  $6.96 \pm 0.07$ ;  $P < 0.01$ ) and, as expected, acidogenic supplementation duration was lower at 3W (25.45 vs.  $31.48 \pm 0.62$  d;  $P < 0.01$ ). Cows tended to lose more weight during the postpartum period when fed for 4W (47.1 vs.  $32.7 \pm 6.53$  kg;  $P = 0.07$ ), and milk fat content tended to be higher when cows were supplemented with 4W (3.95 vs.  $3.75 \pm 0.08\%$ ;  $P = 0.06$ ). Other variables such as body condition score, colostrum yield and Brix, milk composition, and somatic cell count did not differ between treatments. There was also no difference for milk yield for duration (46.76 vs.  $46.90 \pm 0.84$  kg/d;  $P = 0.91$ ) or level (47.18 vs.  $46.47 \pm 0.84$  kg/d;  $P = 0.55$ ). Regarding metabolite measurements, higher concentrations of gamma glutamyl transferase (27.4 vs.  $29.4 \pm 0.63$  U/L;  $P = 0.01$ ) were observed in the 4W duration and smaller albumin concentrations in the -150 level (3.29 vs.  $3.19 \pm 0.03$  g/dL;  $P = 0.02$ ). There was also a trend towards smaller concentrations of glucose measured by glucometer in postpartum blood at 3W duration (2.57 vs.  $2.67 \pm 0.04$  mM;  $P = 0.09$ ) and at the -50 level (2.57 vs.  $2.68 \pm 0.04$  mM;  $P = 0.05$ ). No differences were found for the concentrations of aspartate amino transferase, triacylglycerol, cholesterol, globulin, bilirubin, glucose, non-esterified fatty acid and beta-hydroxybutyrate in the blood. Regarding postpartum total calcium, there was also no difference for duration (1.90 vs.  $1.92 \pm 0.015$  mM;  $P = 0.44$ ) or level (1.90 vs.  $1.92 \pm 0.015$  mM;  $P = 0.30$ ). There were trends towards a reduction in the risk of retained placenta (20.7 vs.  $11.4 \pm 4.0\%$ ;  $P = 0.10$ ) and subclinical hypocalcemia (82.7 vs.  $71.7 \pm 4.8\%$ ;  $P = 0.09$ ) at level -150 level. Productive performance, metabolism and health were modestly influenced by manipulation of DCAD levels and durations, at least within the recommended range of 4 to 3 weeks and -50 to -150 mEq/kg DM level of acidogenic supplementation in the prepartum diet.

**Keywords:** calcium, DCAD, metabolites, transition period, urinary pH

## 2.1 INTRODUÇÃO

O período de transição em vacas leiteiras é a passagem de um estado gestante não lactante para um estado não gestante e lactante (Drackley, 1999). O animal passa por várias mudanças no organismo para sustentar o início da produção de leite (Trevisi e Minuti, 2017). O incremento na exigência de energia, proteína e minerais é aumentado e o consumo não atende esta exigência (Drackley, 1999). Desta forma, a nutrição da vaca leiteira neste momento tem sido alvo de muitas pesquisas e merece ser investigado detalhadamente.

O Ca é um mineral exigido em grandes quantidades para a produção de colostro e leite no pós-parto (Horst et al., 1997). Este mineral está envolvido em várias funções no organismo e a sua baixa concentração sérica caracteriza um quadro frequente de hipocalcemia no pós-parto imediato (Goff, 2008). A estratégia bem estudada e documentada na literatura é a utilização da diferença cátion-aniônica da dieta (DCAD) negativa (Block, 1984; Santos et al., 2019) no pré-parto. Esta estratégia induz uma acidose metabólica compensada e ajuda a vaca aumentar as concentrações de Ca no pós-parto através da mobilização das reservas ósseas e aumento da absorção intestinal (Goff, 2014). Níveis de DCAD ideais que aumentam as concentrações de Ca e portanto, recomendados pelo NRC (2001), estão entre -50 e -150 mEq/kg de MS da dieta. Porém, qual seria o melhor nível de DCAD que ajuda a vaca ter um melhor período de transição ainda pode ser questionado (Santos et al., 2019).

A incidência de hipocalcemia subclínica (HSC) nos rebanhos está ao redor de 50% (Reinhadt, 2011), sendo ainda motivo de preocupação de muitos pesquisadores. A baixa concentração de Ca no sangue é um fator de risco para doenças no pós-parto (Martinez et al., 2012), desempenho reprodutivo (Martinez et al., 2012; Caixeta et al., 2017) e, dependendo do momento pós-parto e de quantos dias persiste a baixa calcemia, pode prejudicar o desempenho produtivo (McArt e Neves, 2020; Rajala-Schultz et al., 1999). A

HSC portanto, é considerada uma “porta de entrada”, que pode aumentar o risco de outras doenças no pós-parto e diminuir a produção de leite (Goff, 2008). Porém, alguns autores tem demonstrado que vacas com HSC transitória (HSCt), ou seja, tão somente hipocalcêmicas nas primeiras 24 h pós-parto, produzem mais leite do que vacas normocalcêmicas (Fillus, 2021; McArt e Neves, 2020).

A duração do período de suplementação da dieta acidogênica também pode influenciar no desempenho da vaca durante o período de transição. Durações muito prolongadas de 42 dias afetam o desempenho produtivo e reprodutivo (Lopera et al., 2018). No entanto, o estudo de Wu et al. (2014) não encontrou diferença no desempenho dos animais quando comparou as durações de 21, 28 e 42 dias. O estudo epidemiológico de Vieira-Neto et al. (2021) encontrou que durações muito curtas e muito prolongadas afetam negativamente o desempenho dos animais. O autor concluiu que as vacas se beneficiaram com durações entre 3 a 4 semanas e melhoraram o desempenho produtivo, reprodutivo, a saúde e a sobrevivência neste período.

Tendo em vista, o nível de DCAD negativa e a duração do pré-parto ideais, nosso estudo questionou qual seria a melhor associação entre estas variáveis, que ajudassem a vaca a atravessar o período de transição com mais qualidade, sem prejudicar o desempenho produtivo, reprodutivo e a longevidade. Portanto, os objetivos foram avaliar os efeitos de duas durações do período de suplementação acidogênica com dois níveis de DCAD negativa no pré-parto, no desempenho produtivo, metabolismo, incidência de doenças e descarte no pós-parto de vacas leiteiras multíparas. Nossa hipótese é que a DCAD -50 ou -150 mEq/kg de MS, por 21 ou 28 dias de duração da suplementação, produzem resultados similares.

## 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (Protocolo número 056/2021).

### 2.2.1 *Delineamento experimental e tratamentos*

O delineamento experimental utilizado foi blocos completos casualizados, em esquema fatorial 2x2, com 2 níveis de DCAD negativa: -50 (DCAD moderada) ou -150 mEq/kg MS (DCAD intensa) e 2 períodos de duração: 21 dias (3W) ou 28 dias (4W) da suplementação acidogênica no pré-parto. As vacas foram blocadas por paridade no pré-parto (1 vs.  $\geq 2$ ) e data prevista de parto, e dentro de cada bloco, foram alocadas aleatoriamente para 1 dos 4 tratamentos. Os tratamentos foram organizados de acordo com a duração 3W ou 4W e o nível -50 ou -150 e, portanto, foram designados: 3W-50, 3W-150, 4W-50 e 4W-150.

A fim de definir o período de duração com maior precisão, a média de duração da gestação dos animais no último ano de parição da propriedade foi calculada. Desta forma, a data de parto corrigida, foi ajustada para cinco dias a menos da data de parto prevista inicialmente, o que correspondeu a uma duração média de 275 d.

O DCAD foi calculado usando a seguinte fórmula:  $DCAD = [(mEq\ K + mEq\ Na) - (mEq\ Cl + mEq\ S)]$  (Ender et al., 1971). As mudanças no nível de DCAD foram alcançadas através da manipulação de diferentes quantidades do suplemento acidogênico utilizado. Todos os ingredientes foram analisados anteriormente quanto ao seu conteúdo macromineral, para garantir que as dietas mantivessem o nível de DCAD de -50 ou -150 mEq/kg de MS durante todo o período experimental.

Amostras de urina foram coletadas nos dias -21, -17, -13, -9, -5 e -1d em relação à data do parto, por estimulação manual da região perineal. O jato médio de urina foi coletado

e amostras de 50 mL foram armazenadas em frascos devidamente identificados e o pH foi mensurado após ter passado 1h da coleta (phmetro medidor portátil HI98127 – Hanna Instruments Inc.). A mensuração do pH de urina foi utilizada para confirmar se o nível de DCAD das dietas pré-parto estavam mantendo o mesmo nível estabelecido desde o início do experimento.

### **2.2.2 Vacas, alojamento e dieta**

O experimento foi conduzido em rebanho comercial localizado em Castro, Paraná, Brasil (Latitude -24° 72' 85" e Longitude -49° 75' 83"), no período de novembro de 2021 à abril de 2022. Um total de 196 vacas primíparas e multíparas da raça Holandês, prenhas com  $249 \pm 4$  d de gestação, foram inscritas no estudo, 84 que completaram a primeira lactação e 112 que completaram a segunda lactação ou mais.

Os animais foram transferidos para os lotes pré-parto semanalmente, no período da manhã, de acordo com a data prevista de parto corrigida. Foram formados dois lotes para abrigar os animais nos tratamentos nível de DCAD -50 e -150 em dois diferentes barracões. Durante o pré-parto, foram alojados em instalação do tipo *compost barn*, com camas de serragem e ventiladores, em lotação de 10 a 12 m<sup>2</sup> por vaca. Após o parto, as vacas foram direcionadas para instalação do tipo *free stall*, com 90% de lotação e permaneceram neste lote ( $20,6 \pm 0,6$  d), até a mudança para o lote de alta produção.

As dietas pré-parto foram formuladas para serem isonutricionais e com a mesma inclusão de forragem e composição mineral, com exceção das concentrações dos ânions fortes (cloro e enxofre) que foram utilizados para manipular o nível de DCAD em -50 ou -150 mEq/kg de MS (Tabelas 1 e 2). As dietas foram formuladas de acordo com as novas exigências nutricionais de vacas leiteiras no período de transição (NASEM, 2021). As vacas no pré e pós-parto foram alimentadas *ad libitum* na forma de dieta total misturada (TMR),

uma vez ao dia, às 09h00 e às 06h00 , respectivamente, e as quantidades do oferecido foram ajustadas diariamente, para resultar em pelo menos 10% de recusas de todo o lote. As concentrações de matéria seca (MS) das silagens foram monitoradas semanalmente, por análise em equipamento tipo Koster (Koster Crop Tester Inc., Brunswick, OH), a fim de ajustar as dietas caso fosse necessário.

O suplemento acidogênico Bovigold<sup>®</sup>, um produto da *DSM - Nutritional Products* (Produto acidogênico A, Tabela 1) já estava sendo fornecido, sendo exigido pela fazenda e pelo nutricionista, não remover a totalidade deste suplemento da dieta experimental. O segundo suplemento acidogênico utilizado no experimento para atingir os níveis de DCAD estabelecidos, foi o Animate<sup>®</sup>, um produto da *Phibro Animal Health Corporation* (Produto acidogênico B, Tabela 1). O Animate é um suplemento mineral acidogênico utilizado no pré-parto de vacas durante o período de transição. Possui no mínimo 32% de PB e a sua fórmula é a base de cloreto de amônio, sulfato de magnésio e sulfato de Ca.

A temperatura ambiente e a umidade no interior de cada barracão dos lotes pré-parto foram medidas em intervalos de 60 minutos (Thermo-hygrometer - MX2301A Data Logger HOBO) a 2,5 m do piso, a fim de indicar algum grau de estresse calórico dos animais. O Índice de Temperatura-Umididade (THI) foi calculado de acordo com Yousef (1985) e é relatado nas Figuras 1 e 2.  $THI = T + 0,36 \times SD + 41,2$ ; onde T = temperatura (°C) e SD = ponto de orvalho (°C).

### **2.2.3 Manejo durante o parto**

As vacas foram observadas quanto aos sinais do parto, e qualquer forma de intervenção foi evitada, com exceção para os partos com duração prolongada (>2 h). A produção de colostro foi mensurada e uma alíquota foi coletada para mensuração do Brix através de um refratômetro digital (Cow Colostrum Tester – Soonda Official Store). Como

parte do manejo da fazenda, todas as vacas no momento da ordenha do colostro receberam uma solução de eletrólitos de consumo voluntário (Nutridrench Salus Avril Group, Santo Antônio de Posse, SP) e foram administradas doses de complexo vitamínico (15 mL, Adaptador vitamínico), mineral (15 mL, Adaptador mineral) e aminoacídico (10 mL, Anabolic) além de desvermifugadas. A coleta de sangue (Dia 0) foi realizada antes de qualquer procedimento com os animais. Os bezerros nascidos foram pesados pela mensuração do perímetro torácico por fita métrica de pesagem de bovinos leiteiros.

#### **2.2.4 Coleta e análise de amostras**

Amostras dos volumosos e da TMR dos lotes pré-parto foram coletadas quinzenalmente pelo mesmo amostrador, identificadas e armazenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o processamento. Todo o processamento e análises das concentrações de MS, cinzas, proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), extrato etéreo (EE) e macrominerais foram realizadas pelo Laboratório de Bromatologia da Universidade Federal do Paraná. As amostras foram secas em estufa a  $55^{\circ}\text{C}$  por 72 h e moídas para passar por uma tela de malha de 1mm de diâmetro em moinho estacionário (Wiley Mill, Thomas Scientific, Swedesboro, NJ), e armazenadas até a análise.

A concentração de MS foi determinada a  $105^{\circ}\text{C}$  por 24 h e cinzas foi avaliada a  $550^{\circ}\text{C}$  por 8 h. Todas as análises foram determinadas segundo os métodos da AOAC (Official Methods of Analysis of AOAC International, 2016). As frações de EE, FDN e FDA foram adaptadas para equipamento tipo ANKOM 2000. A fração PB seguiu o método Kjeldahl. O mineral Ca foi determinado por titulação, P por colorimetria, Na e K por fotometria e Cl e S por absorção atômica.

As vacas foram ordenhadas três vezes ao dia (04h00, 12h00 e 19h00) em ordenhadeira tipo carrossel com identificação automática (GEA). A produção de leite foi

registrada individualmente por ordenha durante todo o experimento por meio de um medidor automático, e as mensurações foram arquivadas pelo software de gerenciamento de rebanho DairyPlan. As amostras de leite foram obtidas por um tomador de amostra da própria ordenhadeira, que era acoplado no sistema, no momento da ordenha. Amostras simples de leite, da ordenha da noite, foram coletadas semanalmente durante o período pós-parto ( $20 \pm 5$  dias), e armazenadas sob refrigeração em frascos com o conservante bronopol (2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol), para análise. A concentração de sólidos no leite (gordura, proteína, lactose e caseína) e o nitrogênio ureico no leite (NUL) foram medidos por análise de infravermelho e a contagem de células somáticas (CCS), por citometria de fluxo, em laboratório comercial (Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa). Como parte do manejo da fazenda, todos os animais a partir de 60 dias em leite (DEL), dependendo da situação de saúde e do escore de condição (ECC), receberam doses de somatotropina bovina (BST, Lactotropin) em intervalos a cada 10 dias.

A secreção diária de energia no leite (EL, Mcal/d) foi calculada segundo o NASEM (2021):  $EL = [(0,0929 \times \% \text{ gordura}) + (0,0547 \times \% \text{ proteína}) + (0,0395 \times \% \text{ lactose})] \times \text{kg de leite}$ . A produção de leite corrigida para energia (PLCE) foi calculada por:  $PLCE = EL/0,70$ . Esse procedimento assume que o conteúdo de energia no leite com 3,7% de gordura, 3,2% de proteína e 4,6% de lactose é 0,70 Mcal/kg. A produção de leite corrigida para 4% de gordura (PLC4%Gor) foi calculada com a equação de Gaines (NASEM, 2021):  $PLC4\%Gor = (0,4 + 15 \times \% \text{ gordura}/100) \times \text{kg de leite}$ . A CCS foi transformada para uma escala linear de 0 a 9 pela seguinte equação:  $CCS \text{ Linear} = -3,6438 + 1,4427 * \ln (CCS)$ .

### **2.2.5 Peso corporal e ECC**

As vacas foram pesadas e o ECC foi avaliado em uma escala de 1 a 5 pontos (Wildman et al., 1982), no dia da entrada no lote pré-parto, no dia do parto e no dia que

saíram do lote pós-parto. Os animais foram pesados no período da manhã antes da alimentação, por uma fita métrica de pesagem de bovinos leiteiros, a partir da mensuração do perímetro torácico. O peso corporal e o ECC foram determinados pelo mesmo avaliador durante todo o experimento.

### **2.2.6 Amostragem e processamento do sangue**

A partir de 268 dias de gestação (d-7 em relação à data do parto), o sangue foi coletado de todas as vacas e, em seguida, nos dias 0, 1, 2, 3, 4, 7 e 14 pós-parto por punção dos vasos sanguíneos coccígeos em tubos evacuados com separador de soro de 9 mL. Os tubos foram centrifugados por 15 min a  $2.500 \times g$  à temperatura ambiente e o soro sobrenadante foi pipetado e distribuído em duplicatas de microtubos de 1,5 mL, e posteriormente congelados a  $-20^{\circ}\text{C}$  até a análise. Alíquotas dos dias 1, 2, 3 e 4 d pós-parto, foram destinadas para análise de cálcio total e avaliação da calcemia. Já nos dias d-7, antes da data prevista do parto, 0, 3, 7 e 14 d pós-parto, as alíquotas foram destinadas para análise dos seguintes metabólitos sanguíneos: albumina, aspartato amino transferase (AST), bilirrubina, colesterol, gama glutamil tranferase (GGT), glicose, globulina e triacilglicerol (TAG). Por fim, amostras dos dias d-7, 0 e 7d, foram destinadas para análise das concentrações de ácidos graxos não esterificado (AGNE). As amostras foram analisadas em equipamento bioquímico automatizado (BS200 Mindray Starlab) no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Universidade Federal do Paraná. Os metabólitos AST, bilirrubina, GGT e AGNE foram analisados pelo método cinético UV. Já os metabólitos colesterol e TAG pelo método cinético colorimétrico. A glicose pelo método enzimático colorimétrico. Albumina pelo método colorimétrico verde de bromo-cresol. E por fim, no mesmo laboratório, o tCa foi analisado pelo método colorimétrico Arsenazo III.

Amostras de sangue foram coletadas nos dias 1, 2, 3 e 4 pós-parto por punção dos vasos sanguíneos coccígeos em tubos evacuados contendo heparina de sódio. Imediatamente após a coleta, uma alíquota do sangue total foi utilizada para mensuração do cálcio ionizável pelo analisador bioquímico portátil (*i-STAT* e cartuchos EG7+ Cartridge). A análise foi realizada e distribuída aleatoriamente entre os tratamentos em 15% dos animais inscritos no estudo.

Nos dias 3, 7 e 14 d pós-parto, foi feito o monitoramento das concentrações de glicose e corpos cetônicos no sangue total ainda fresco, por meio de glicosímetro portátil digital e tiras reagentes (FreeStyle Optium Neo Abbott).

### **2.2.7 Categorização de doenças e sobrevivência**

A incidência de doenças clínicas foi avaliada desde o parto até 60 dias após o parto e todas as doenças foram definidas antes de iniciar o estudo. Nenhum diagnóstico de hipocalcemia clínica ocorreu durante o experimento e nenhuma vaca recebeu qualquer tipo de terapia contendo Ca (Ca oral ou injetável) durante o experimento. Todas as vacas foram acompanhadas durante o pós-parto, e qualquer vaca que apresentasse inapetência ou queda na produção de leite, foi examinada e diagnosticada pelo médico veterinário da fazenda.

A retenção de placenta foi considerada como a falha de expulsar as membranas fetais no prazo de 24 h após o parto. A metrite puerperal foi definida pela presença de secreção aquosa fétida e avermelhada, com ou sem febre ( $\geq 39,5^{\circ}\text{C}$ ), até 20 DEL (Sheldon et al., 2009). O deslocamento de abomaso foi realizado por ausculta e percussão próximo às fossas paralombares, confirmado durante a intervenção cirúrgica para correção por omentopexia. A mastite clínica foi diagnosticada antes de cada ordenha e todas as vacas foram examinadas quanto à presença de leite anormal em um ou mais quartos.

Hiperetonemia foi definida como concentrações séricas de beta-hidroxibutirato (BHB)  $\geq 1,20$  mM em pelo menos uma amostra coletada nos dias 3 e 7 pós-parto (McArt et al., 2013).

A morbidade incluiu vacas que apresentavam pelo menos uma das seguintes doenças clínicas: retenção de placenta, metrite puerperal, cetose, deslocamento de abomaso e mastite. Vacas com mais de uma doença clínica foram classificadas como portadoras de múltiplas doenças. O descarte dos animais foi considerado até 60 DEL.

A incidência de hipocalcemia subclínica foi baseada em pelo menos duas amostras com tCa sérico  $\leq 2,0$  mM (Reinhardt et al., 2011) medidos em 1, 2, 3 e 4 d pós-parto. A classificação quanto aos tipos de hipocalcemia subclínica foi adaptado segundo metodologia de McArt e Neves (2020). As vacas foram estratificadas de acordo com a concentração de tCa total medido nos dias 1 e 4 pós-parto. Portanto, foram considerados os seguintes critérios: normocalcemia, quando concentração de tCa  $> 2,0$  mM no dia 1 e  $> 2,0$  mM no dia 4; hipocalcemia subclínica transitória (HSCt), quando concentração de tCa  $\leq 2,0$  mM no dia 1 e  $> 2,0$  mM no dia 4; hipocalcemia subclínica persistente (HSCp), quando concentração de tCa  $\leq 2,0$  mM no dia 1 e  $\leq 2,0$  mM no dia 4; e hipocalcemia subclínica atrasada (HSCa), quando concentração de tCa  $> 2,0$  mM no dia 1 e  $\leq 2,0$  mM no dia 4.

### **2.2.8 Análise estatística**

As variáveis foram analisadas pelo programa estatístico SAS versão 9.4 (SAS University Edition, Cary, NC). Os dados pré e pós-parto foram analisados separadamente e a vaca foi considerada como unidade experimental. As variáveis contínuas foram analisadas com modelos lineares de efeitos mistos pelo procedimento MIXED do SAS. Para os dados com medida única no tempo, o modelo estatístico incluiu os efeitos fixos de duração (3W vs. 4W), nível (-50 vs. -150), paridade (1 ou  $\geq 2$ ), suas interações e o efeito aleatório de bloco. Para os dados de metabólitos sanguíneos pré-parto, o dia real de coleta em relação ao parto,

foi incluído como covariável no modelo. Para as variáveis com medida repetida, o modelo incluiu os efeitos fixos de duração, nível, paridade, tempo e suas interações, e os efeitos aleatórios de bloco e de vaca aninhada dentro de tratamento. A lactação prévia foi incluída como covariável no modelo estatístico para analisar os dados de produção e composição do leite. As seguintes estruturas de covariância foram testadas: auto regressiva de primeira ordem [AR(1)]; estrutura de potência espacial [SP(POW)]; não estruturada (UN); simetria composta (CS); e Toeplitz (TOEP), e aquela que apresentou o menor valor do critério de informação de Akaike corrigido (AICC) foi selecionada. O comando SLICE do SAS foi utilizado para estratificar as interações entre tratamento e tempo.

A normalidade dos resíduos e a homogeneidade da variância foram examinadas para cada variável dependente contínua analisada. Aquelas que não apresentaram normalidade foram submetidas à transformação de acordo com o procedimento Box-Cox (Box e Cox, 1964) usando uma macro para modelos mistos no SAS (Piepho, 2009). As médias dos mínimos quadrados e o erro padrão médio foram novamente transformados para apresentação dos resultados de acordo com Jørgensen e Pedersen (1998).

As variáveis binárias foram analisadas por modelos lineares generalizados de efeitos mistos usando regressão logística com o procedimento GLIMMIX do SAS. Os modelos estatísticos incluíram os efeitos fixos de duração, nível e suas interações e o efeito aleatório de bloco. A significância estatística para todas as variáveis foi considerada em  $P \leq 0,05$ , e a tendência foi considerada em  $0,05 < P \leq 0,10$ .

## **2.3 RESULTADOS**

Após a aplicação dos critérios de exclusão, 177 vacas foram incluídas nas análises estatísticas, 76 que completaram a primeira lactação e 101 que completaram a segunda

lactação ou mais. A Tabela 3 descreve os motivos de exclusão e o número de animais por tratamento que foram incluídos nas análises estatísticas.

O pH de urina foi alterado pelo nível de DCAD negativa no pré-parto ( $P < 0,01$ ). As vacas tiveram 7,0 e  $5,8 \pm 0,1$  unidades de pH nos tratamentos -50 e -150, respectivamente (Figura 3). A duração do período de suplementação pré-parto foi diferente entre os tratamentos. Animais atribuídos na duração 3W, permaneceram  $25,5 \pm 0,6$  dias no lote pré-parto, e animais atribuídos na duração 4W, permaneceram  $31,5 \pm 0,6$  dias ( $P < 0,01$ , Tabela 4). As variáveis lactação prévia, duração da lactação prévia, duração do período seco, duração da gestação, duração do pós-parto e dia real de coleta de sangue no período pré-parto não diferiram entre os tratamentos (Tabela 4).

### **2.3.1 Desempenho produtivo**

O peso corporal e o ECC são apresentados na Tabela 5. Os animais da duração 3W pesaram menos ( $P = 0,01$ ) no dia que entraram no lote pré-parto (3W, 702,2 vs. 4W,  $726,0 \pm 6,5$  kg) e tenderam a serem mais leves ( $P = 0,08$ ) no dia do parto (3W, 733,1 vs. 4W,  $748,6 \pm 6,5$  kg). No entanto, uma tendência ( $P = 0,07$ ) foi observada para a mudança no peso corporal entre o pré-parto e o pós-parto, no qual, as vacas na duração 3W perderam menos peso (3W, -32,6 vs. 4W,  $-47,1 \pm 6,5$  kg) em relação as vacas na duração 4W. O peso da cria, o ECC e a mudança no ECC pré-parto e pós-parto não diferiram entre os tratamentos.

A produção de leite, os componentes do leite, o NUL, o escore de CCS, a produção de colostro e o Brix do colostro são apresentados na Tabela 6. A produção de leite nas primeiras 14 semanas é apresentada na Figura 4. As concentrações de gordura, proteína e lactose do leite são apresentadas na Figura 5. Uma tendência ( $P = 0,06$ ) foi observada para o aumento no teor de gordura do leite para a duração 4W (3W, 3,8 vs. 4W,  $3,9 \pm 0,1$  %). O NUL tendeu ( $P = 0,10$ ) aumentar na duração 4W (3W, 13,5 vs. 4W,  $14,7 \pm 0,6$  mg/dL), e

diminuir ( $P = 0,05$ ) no nível -150 (-50, 14,8 vs. -150,  $13,5 \pm 0,6$  mg/dL). A produção de leite nas primeiras 14 semanas de lactação, a PLCE, a PLC4%Gor, o rendimento dos componentes do leite, o escore de CCS linear, a produção de colostro e o Brix do colostro não diferiram entre os tratamentos.

### **2.3.2 Metabólitos sanguíneos**

Os metabólitos sanguíneos foram analisados separadamente, porém, as concentrações pré e pós-parto são apresentados na mesma figura para cada metabólito. Os metabólitos sanguíneos pré-parto são apresentados na Tabela 7. Não foram encontradas diferenças entre os tratamentos. Apenas uma tendência ( $P = 0,05$ ) foi encontrada na interação duração e nível para o metabólito bilirrubina. Os metabólitos sanguíneos pós-parto, as concentrações de cálcio iônico e de cálcio total e as concentrações de glicose e BHB medidos pelo glicosímetro são apresentados na Tabela 8. A concentração da enzima GGT foi menor ( $P = 0,01$ ) para a duração 3W (3W, 27,4 vs. 4W,  $29,4 \pm 0,6$  U/L) em relação a duração 4W. As enzimas GGT e AST são apresentadas na Figura 6. A redução no nível de DCAD para -150 aumentou ( $P = 0,01$ ) a concentração de TAG (-50, 8,0 vs. -150,  $8,5 \pm 0,1$  mg/dL) e diminuiu ( $P = 0,02$ ) a concentração de albumina (-50, 3,3 vs. -150,  $3,2 \pm 0,03$  g/dL) no soro, em relação ao nível -50. As concentrações de TAG e colesterol são apresentadas na Figura 7 e as concentrações de albumina e globulina na Figura 8. Tendências foram encontradas para a glicose medida pelas fitas reagentes e o glicosímetro. A concentração de glicose tendeu ser menor ( $P = 0,09$ ) para a duração 3W (3W, 2,6 vs. 4W,  $2,7 \pm 0,04$  mM) e tendeu ser menor ( $P = 0,05$ ) para o nível -50 (-50, 2,6 vs. -150,  $2,7 \pm 0,04$  mM). As concentrações de glicose e BHB medidos pelo glicosímetro são apresentados na Figura 12. Uma tendência ( $P = 0,09$ ) foi encontrada na interação duração e nível para o metabólito colesterol; o tratamento 4W-50 tendeu ( $P = 0,07$ ) uma maior concentração de colesterol no

dia 14 de coleta. A concentração de globulina tendeu ( $P = 0,07$ ) ser maior no tratamento 4W-50. As concentrações de bilirrubina (Figura 9), glicose e AGNE (Figura 10) e iCa e tCa (Figura 11) não diferiram entre os tratamentos.

### **2.3.3 Saúde e sobrevivência**

Os efeitos da duração e do nível de DCAD na saúde, doenças e sobrevivência são apresentados na Tabela 9. A redução do nível de DCAD para -150 tendeu ( $P = 0,10$ ) a diminuir a incidência de retenção de placenta (-50, 19,9 vs. -150, 10,8%), tendeu ( $P = 0,09$ ) a diminuir a HSC (-50, 83,6 vs. -150, 72,6%) e tendeu ( $P = 0,10$ ) a diminuir a incidência de HSC persistente (-50, 52,1 vs. -150, 37,7%) em relação ao nível -50. Os tratamentos não influenciaram na incidência de metrite, cetose, deslocamento de abomaso, mastite, HSC transitória e HSC atrasada. E também não influenciaram nos eventos de morbidade, múltiplas doenças, morte e descarte dos animais.

## **2.4 DISCUSSÃO**

O objetivo foi avaliar duas durações de suplementação acidogênica no pré-parto, 21 ou 28 dias, associadas com dois níveis de DCAD negativa, -50 ou -150 mEq/kg MS, de vacas leiteiras multíparas, em um rebanho comercial de alta produtividade. De maneira geral, o desempenho produtivo, o metabolismo, a saúde e o descarte dos animais não diferiram entre os tratamentos, o que confirma a nossa hipótese inicial.

O nível de DCAD ideal para otimizar a saúde e o desempenho de vacas multíparas ainda pode ser melhor definido (Santos et al., 2019). É sabido que a redução do DCAD aumenta a concentração de Ca, a produção de leite e melhora a saúde de vacas multíparas (Lean et al., 2019; Santos et al., 2019). O intervalo recomendado no nível de DCAD em dietas pré-parto, para reduzir o risco de hipocalcemia em vacas leiteiras, foi sugerido entre os níveis -50 a -150 mEq/kg MS (NRC, 2001). Dietas com DCAD negativo induzem uma

acidose metabólica compensada que aumenta a sensibilidade do tecido ao PTH e permite a restauração da homeostase do Ca, o qual, previne o desenvolvimento da hipocalcemia clínica (febre do leite) e minimiza a incidência da hipocalcemia subclínica (Goff, 2014). A acidose metabólica é alcançada pela manipulação da composição mineral da dieta, através da suplementação de ânions fortes (DeGaris e Lean, 2008). A maior absorção destes ânions pelo intestino resulta na redução do excesso de base no sangue e na retenção de íons H<sup>+</sup>, que conseqüentemente reduz o pH sanguíneo.

A dieta com DCAD negativa, além de induzir uma acidose metabólica compensada, também aumenta a excreção urinária de H<sup>+</sup> (Hu e Murphy, 2004), o que reduz o pH da urina. O pH urinário foi diferente entre os tratamentos -50 e -150 mEq/kg MS neste estudo, sendo portanto, uma ferramenta que fornece a magnitude do estado ácido-básico sistêmico em vacas leiteiras alimentadas com dietas acidogênicas (Constable et al., 2019). Era esperado que o nível de DCAD -50 apresentasse pH ao redor de 7,0 e o nível de DCAD -150, pH ao redor de 5,5, o que foi aproximadamente alcançado nos tratamentos deste estudo.

As concentrações médias de tCa das vacas deste experimento, de maneira geral, foram menores do que as médias encontradas na literatura. O limiar de tCa de uma vaca normocalcêmica é considerado 2,0 mM (Caixeta et al., 2017; Reinhardt, 2011). Desta forma, para não superestimar as vacas categorizadas como HSC, escolhemos o limiar de 2,0 mM proposto por Reinhardt (2011), ao invés do limiar de 2,15 mM proposto no estudo de Martinez et al. (2012). Em nosso experimento, as vacas apresentaram concentrações médias de tCa  $\leq$  2,0 mM, sugestivo que a baixa calcemia pode ser uma característica “endêmica” do rebanho. Entretanto, a baixa concentração de tCa não foi um obstáculo para o desempenho produtivo das vacas neste estudo, mesmo que a incidência de HSC encontrada possa ter sido superestimada e a HSC crônica ter sido elevada. Em estudos recentes, vacas com baixa

concentração de tCa produziram mais leite do que vacas consideradas normocalcêmicas, sugestivo que o grau de HSC seja transitório. A concentração de tCa no soro de vacas produzindo 50 kg/d de leite é menor que 2,0 mM (Ramberg, 1984). Valores baixos de tCa foram encontrados por Weich et al. (2013), porém as vacas deste trabalho produziram menos leite do que as vacas do presente estudo.

No estudo de Jawor et al. (2012), vacas multíparas com HSC às 24 h (tCa < 1,80 mM) após o parto, tenderam a produzir 5,7 kg/d a mais de leite até a quarta semana em comparação com vacas normocalcêmicas. A baixa concentração de tCa pode ocorrer pelo aumento do dreno de cálcio que é necessário para sustentar o aumento abrupto da produção de leite, não necessariamente este fenômeno seja negativo para a vaca, desde que não afete à sua saúde. McArt e Neves (2020), ao categorizar os tipos de HSC de acordo com a paridade e o DEL de amostragem de tCa, também observaram que vacas com HSCt produziram mais leite do que vacas normocalcêmicas, e vacas com HSC crônica (atrasadas ou persistentes) também apresentaram menor produção. Portanto, a HSCt não prejudica a produção de leite e pode estar associado a uma maior produção (Jawor et al., 2012; Neves et al., 2018a; Venjakob et al., 2018; McArt e Neves, 2020). O que contradiz com os nossos achados, é o aumento da incidência de HSC crônica em relação aos animais com HSCt, com a elevada produção de leite das vacas neste estudo, esperávamos que a incidência de HSCt fosse maior do que a HSCp.

Couto Serrenho et al. (2021), em um experimento de campo em 4 fazendas leiteiras no Canadá, onde atribuíram 15 parcelas para dietas no pré-parto, metade com um DCAD médio de +105 (7 parcelas) e a outra metade com um DCAD médio de -108 mEq/kg MS (8 parcelas), concluíram que a alimentação com dietas acidogênicas melhorou o desempenho produtivo em vacas multíparas, ao passo que quando o número de lactações aumenta, o

risco de febre do leite também aumenta (DeGaris e Lean, 2008; Reinhardt et al., 2011; Venjakob et al., 2017).

A tendência no aumento do teor de gordura no leite neste estudo pode ser explicada pelo maior peso corporal das vacas na duração 4W no dia que entraram no pré-parto e no dia do parto. Estes animais perderam mais reservas corporais para sustentar a lactação e conseqüentemente tiveram um maior teor de gordura no leite, provavelmente ácidos graxos pré-formados de cadeia longa, mas a tendência não foi extrapolada para a produção de gordura em kg/d. A gordura no leite pode ser uma medida indireta de lipomobilização (Bauman, 1999; Carrari et al., 2023). O peso corporal não foi utilizado como critério de blocagem em nosso estudo, porém a lactação prévia não foi diferente entre os tratamentos, sugestivo que as vacas em ambos os tratamentos tiveram a mesma capacidade produtiva independente do peso corporal.

A duração da suplementação da dieta acidogênica no período pré-parto pode estar associada ao desempenho produtivo, reprodutivo e saúde dos animais. A duração do pré-parto já foi estudada por alguns autores (Lopera et al., 2018; Weich et al., 2013; Wu et al., 2014), e uma duração de 42 dias ou mais é prejudicial para o desempenho produtivo e reprodutivo (Lopera et al., 2018; Vieira-Neto et al., 2021). Os nossos resultados confirmam os achados do estudo epidemiológico de Vieira-Neto et al. (2021), no qual vacas multíparas apresentaram melhor desempenho quando a duração do pré-parto é de 21 a 28 dias, sendo conveniente para o produtor manejar os animais dentro deste intervalo. É possível que as durações 3W e 4W estejam associadas a um melhor suprimento de nutrientes para mamogênese no final da gestação (Capuco et al., 1997). Vale ressaltar que, a nossa tentativa de corrigir a data prevista de parto, de acordo com a duração média de gestação

do último ano de parição do rebanho, distanciaram nossos tratamentos de 21 e 28 d para 25,5 e 31,5 d, respectivamente.

Em nosso experimento não houve incidência de hipocalcemia clínica ou pelo menos nenhum animal precisou receber algum tratamento com cálcio, oral ou injetável. A dieta acidogênica também desempenha um papel importante no controle de doenças no pós-parto imediato. No presente experimento, as incidências de retenção de placenta e hipocalcemia subclínica tenderam ser menores para o nível de DCAD -150 mEq/kg MS. Na meta-análise de Santos et al. (2019), os autores encontraram que a redução do nível de DCAD diminuiu o risco de doenças uterinas. A redução do risco de doenças no pós-parto se dá pelo aumento das concentrações sanguíneas de Ca, que aumenta a motilidade da musculatura lisa e melhora o desempenho reprodutivo e imunológico. É interessante notar em nosso estudo, que apesar da alta incidência de HSC e alta produção de leite das vacas, os animais tiveram um risco modesto de morbidade (38,4% de morbidade geral), sugestivo que as vacas souberam lidar bem com o metabolismo de Ca durante o período de transição. Vacas multíparas são frequentemente alimentadas com dietas contendo suplementos acidogênicos para reduzir o risco de hipocalcemia com benefícios evidentes para a saúde (Lean et al., 2019; Santos et al., 2019; Couto Serrenho et al., 2021).

Em geral, os metabólitos sanguíneos não foram diferentes entre os tratamentos. As vacas no pós-parto passam por um período de hipoglicemia devido ao aumento abrupto de dreno de glicose para sustentar a produção de leite e a lactose (Bell, 1995). Podemos especular que as baixas concentrações de BHB e AGNE podem ser parcialmente explicadas pelo uso de colina protegida ruminalmente na dieta pré-parto, sugestivo de aumento da eficiência do uso de reservas para sustentar a lactação que se inicia (Arshad et al., 2019). O bom manejo de ECC adotado na fazenda pode também estar associado às baixas

concentrações destes metabólitos no sangue. As baixas concentrações desses metabólitos associado a uma perda não exarcebada de ECC, interfere positivamente nas funções produtivas e reprodutivas de vacas leiteiras (Roche et al., 2009). As vacas de maneira geral tiveram uma saúde hepática condizente com o desempenho produtivo e saúde satisfatória. Embora, as vacas no nível -50 parecem ter sofrido mais devido uma observação numérica no evento morbidade, isto não foi um impeditivo para o bom desempenho lactacional, como observado.

Tendências foram observadas para aumento de glicose medida pelo glicosímetro nos tratamentos duração e nível, porém não foi observado o mesmo aumento para glicose mensurada nas amostras de soro no analisador bioquímico automatizado no laboratório. De fato há citações que afirmam que a correlação entre as duas ferramentas de análise, no caso da glicose, não é tão alta. No início da lactação a glicose tem como destino prioritário a glândula mamária, sendo precursora para a síntese de lactose. Esta portanto, tem como função a regulação osmótica para produção de colostro e leite (Bauman e Currie, 1980). Neste momento, a maior demanda de glicose para atender a produção de leite é suprida pela gliconeogênese (Herdt, 2000). Desta forma, nossos achados não sustentam que a duração 4W e o nível -150 possam ter aumentado a concentração de glicose plasmática, o que seria interessante.

O fígado é um órgão vital para a vaca neste momento do ciclo produtivo, com a capacidade de filtrar todo o sangue portal vindo dos tecidos (Horst et al, 2021). Durante o processo inflamatório o fígado inicia a síntese de proteínas de fase aguda que auxiliam na resposta imune e desintoxicação (Strnad et al., 2017). Estas proteínas de fase aguda podem ser classificadas em positivas ou negativas (Kushner e Mackiewicz, 1987), e aumentam ou diminuem de acordo com o processo inflamatório. A albumina é uma proteína de fase aguda

negativa, e a sua redução é indesejável, pois é um indicativo do aumento de proteínas inflamatórias de fase aguda positiva, que levarão a uma resposta inflamatória intensa e exacerbada. Em nosso estudo, o nível -150 reduziu a concentração de albumina, sugestivo que as vacas neste tratamento estavam passando por uma ativação do processo inflamatório.

## **2.5 CONCLUSÕES**

O desempenho produtivo, o metabolismo e a saúde de vacas leiteiras multíparas foram pouco influenciados pela manipulação dos níveis e durações de DCAD, pelo menos dentro da faixa recomendada de 4 a 3 semanas e nível de -50 a -150 mEq/kg MS de suplementação acidogênica na dieta pré-parto. O nível -150 tendeu a reduzir o risco de retenção de placenta e HSC, porém, com a mesma resposta em produção de leite. Já quanto a duração da suplementação acidogênica, nossos resultados sugerem que 3 semanas de DCAD negativo no pré-parto já são suficientes para colher os benefícios das dietas acidogênicas.

## **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem à Phibro Animal Health Corporation pelo suporte financeiro ao experimento. Agradecemos à Agropecuária Arkafla, seus proprietários e colaboradores, por receber e viabilizar o experimento. Ao Grupo do Leite da Universidade Federal do Paraná pelo apoio. Ao técnico Olair que conduziu as análises de sangue no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da UFPR e à técnica Cleuza que conduziu as análises bromatológicas dos alimentos no Laboratório de Bromatologia da Universidade Federal do Paraná

## 2.6 REFERÊNCIAS

- AOAC International. 2017. Official Methods of Analysis. 19th ed. AOAC International, Arlington, VA
- ARSHAD, U., ZENOBI, M. G., STAPLES, C. R. and SANTOS, J. E. P. Meta-analysis of the effects of supplemental rumen-protected choline during the transition period on performance and health of parous dairy cows. *Journal of Dairy Science*. v.103, p. 282-300, 2019.
- BAUMAN, D. E. Bovine somatotropin and lactation: from basic science to commercial application. *Domestic Animal Endocrinology*. v.17, p.101-166, 1999.
- BAUMAN, D. E., and CURRIE, W. B. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *Journal of Dairy Science*. v.63, p.1514-1529, 1980.
- BELL, A. W. 1995. 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. Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk fever. *Journal of Dairy Science*, v.67, p.2939-2948, 1984.
- BOX, G., and COX, D. An analysis of transformations. *J. Royal Stat. Soc. B*. v.26, p.211-243, 1964.
- CAIXETA, L. S., OSPINA, P. A., CAPEL, M. B., and NYDAM, D. V. Association between subclinical hypocalcemia in the first 3 days of lactation and reproductive performance of dairy cows, *Theriogenology*. v.94, p.1-7, 2017.
- CAPUCO, A. V., AKERS, R. M. and SMITH, J. J. Mammary growth in Holstein cows during the dry period: Quantification of nucleic acids and histology. *Journal of Dairy Science*. v.80, p.477-487, 1997.

- CARRARI, I. F. et al. Milk fat to protein ration in the first test-day after calving on dairy cows. *Ciência Rural*. v.53, 2023.
- CONSTABLE, P. D., MEGAHER, A. A. and HIEW, M. W. H. Measurement of urine pH and net acid excretion and their association with urine calcium excretion in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*. v.102, p. 11370-11383, 2019.
- COUTO SERRENHO, R. et al. Controlled trial of the effect of negative dietary cation-anion difference prepartum diets on milk production, reproductive performance, and culling of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. v.104, 2021.
- DEGARIS, P. J., and LEAN, I. J. Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. *The Veterinary Journal*, v.176, p.58-69, 2008.
- DRACKLEY, J.K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *Journal of Dairy Science*, v.82, p.2259-2273, 1999.
- ENDER, F., DISHINGTON, I. W. and HELGEBOSTAD, A. Calcium balance studies in dairy cows under experimental induction and prevention of hypocalcaemic paresis puerperalis. *Z. Tierernähr. Futtermittelkd.* v.28, p.233-256, 1971.
- FILLUS, A. M. Calcemia e ruminação em vacas Jersey recém-paridas em rebanho com ordenha robotizada. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná. p.56, 2021.
- GOFF, J. P. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Veterinary Journal*, v.176, p.50-57, 2008.
- GOFF, J. P., LIESEGANG, A., and HORST, R. L. Diet-induced pseudohypoparathyroidism: a hypocalcemia and milk fever risk factor. *Journal of Dairy Science*, v.97, p.1520-1528, 2014.

- HERDT, T. H. Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. v.16, p.215-230, 2000.
- HORST, E. A., KVIDERA, S. K. and BAUMGARD, L. H. Invited review: The influence of immune activation on transition cow health and performance - A critical evaluation of traditional dogmas. *Journal of Dairy Science*. v.108, 2021.
- HORST, R. L., GOFF, J. P., REINHARDT, T. A., and BUXTON, D. R. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v.80, p.1269-1280, 1997.
- HU, W., and MURPHY, M. R. Dietary cation-anion difference effects on performance and acid-base status of lactating dairy cows: a meta-analysis. *Journal of Dairy Science*. v.87, p.2222-2229, 2004.
- JAWOR, P. E., HUZZEY, J. M., LEBLANC, S. J. and VON KEYSERLINGK, M. A. G. Associations of subclinical hypocalcemia at calving with milk yield, and feeding, drinking, and standing behaviors around parturition in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. v.95, p.1240-1248, 2012.
- Jørgensen, E., and A. R. Pedersen. How to obtain those nasty standard errors from transformed data – and why they should not be used. Page 20 in Biometry Research Unit - Internal Report 7. *Danish Institute of Agricultural Sciences*, 1998.
- KUSHNER, I., and MACKIEWICZ, A. Acute phase proteins as disease markers. *Dis. Markers*. v.5, p.1-11, 1987.
- LEAN, I. J., SANTOS, J. E. P., BLOCK, E., GOLDBERGER, H. M. Effects of prepartum dietary cation-anion difference intake on production and health of dairy cows: a meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, v.102, p.2103-2133, 2019.

- LOPERA, C. et al. Effects of level of dietary cation-anion difference and duration of prepartum feeding on performance and metabolism of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.101, p.7907-7929, 2018.
- MARTINEZ, N. 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.
- MCART, J. A. A., and NEVES, R. C. Association of transient, persistent, or delayed subclinical hypocalcemia with early lactation disease, removal, and milk yield in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, v.103, p.690-701, 2020.
- MCART, J. A. A., NYDAM, D. V., OETZEL, G. R., OVERTON, T. R., and OSPINA, P. A. Elevated non-esterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate and their association with transition dairy cow performance. *The Veterinary Journal*, v.198, p.560-570, 2013.
- NASEM, 2021. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 8<sup>th</sup> rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- NEVES, R. C., LENO, B. M., BACH, K. D., and MCART, J. A. A. Epidemiology of subclinical hypocalcemia in early-lactation Holstein dairy cows: The temporal associations of plasma calcium concentration in the first 4 days in milk with disease and milk production. *Journal of Dairy Science*, v.101, p.9321-9331, 2018a.
- NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- PIEPHO, H. P. Data transformation in statistical analysis of field trials with changing treatment variance. *Agronomy Journal*, v.101, p.865-869, 2009.

- RAJALA-SCHULTZ, P. J., Y. T. Grohn, and C. E. McCulloch. Effects of milk fever, ketosis, and lameness on milk yield in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. v.82, p.288-294, 1999.
- RAMBERG, C. F., JOHNSON, E. K., FARGO, R. D. and KRONFELD, D. S. Calcium homeostasis in cows, with special reference to parturient hypocalcemia. *The American Physiological Society*. 1984.
- REINHARDT, T. et al. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *The Veterinary Journal*, v.188, p.122-124, 2011.
- ROCHE, J. R. et al. Invited review: body condition score and its association with dairy cow productivity, health and welfare. *Journal of Dairy Science*. v.92, p.5769-5801, 2009.
- SANTOS, J. E. P., LEAN, I. J., GOLDER, H., and BLOCK, E. Meta-analysis of the effects of prepartum dietary cation-anion difference on performance and health of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.102, p.2134-2154, 2019.
- SHELDON, I. M., CRONIN, J., GOETZE, L., DONOFRIO, G., and SCHUBERTH, H. J. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biology of Reproduction*, v.81, p.1025-1032, 2009.
- STRNAD, P., TACKE, F., KOCH, A. and TRAUTWEIN, C. Liver - Guardian, modifier and target of sepsis. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* v.14, p.55-66, 2017.
- TREVISI, E., and MINUTI, A. Assessment of the innate immune response in the periparturient cow. *Research in Veterinary Science*, v.116, p.47-54, 2017.
- VENJAKOB, P. L., BORCHARDT, S., and HEUWIESES, W. Hypocalcemia-Cow-level prevalence and preventive strategies in German dairy herds. *Journal of Dairy Science*, v.100, p.9258-9266, 2017.

- VENJAKOB, P. L., PIEPER, L., HEUWIESER, W. and BORCHARDT, S. Association of postpartum hypocalcemia with early-lactation milk yield, reproductive performance, and culling in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. v.101, p.9396-9405, 2018.
- VIEIRA NETO, A., DUARTE, G. A., ZIMPEL, R., THATCHER, W. W., SANTOS, J. E. P. Days in the prepartum group are associated with subsequent performance in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, v.104, p.5964-5978, 2021.
- WEICH, W., BLOCK, E., and LITHERLAND, N. B. Extended negative dietary cation-anion difference feeding does not negatively affect postpartum performance of multiparous dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.96, p.5780-5792, 2013.
- WILDMAN, E. E. et al. 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to standard production characteristics. *Journal of Dairy Science*, v.65, p.495-501, 1982.
- WU, Z., BERNARD, J. K., ZANZALARI, K. P., CHAPMAN, J. D. Effect of feeding a negative dietary cation-anion difference diet for an extended time prepartum on postpartum serum and urine metabolites and performance. *Journal of Dairy Science*, v.97, p.7133-7143, 2014.
- YOUSEF, M. K. 1985. Stress Physiology in Livestock. 1st ed. CRC PressInc., Boca Raton, FL.

### **3 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O conhecimento das estratégias de aumento do Ca plasmático e do metabolismo de Ca durante o período de transição é fundamental para o sucesso no desempenho produtivo e reprodutivo de vacas leiteiras. Por este motivo, a prática de suplementação de dietas acidogênicas é uma estratégia efetiva, de adoção crescente e, muito provavelmente, definitiva na prevenção da hipocalcemia em rebanhos leiteiros. Entretanto, o valor exato da

DCAD negativa ideal suplementado no período de transição ainda não foi estabelecido, bem como a duração exata do período de suplementação ainda é motivo de controvérsia.

O desempenho produtivo, o metabolismo e a saúde de vacas leiteiras multíparas foram pouco influenciados pela manipulação dos níveis e durações de DCAD, pelo menos dentro da faixa recomendada de 4 a 3 semanas e nível de -50 a -150 mEq/kg MS de suplementação acidogênica na dieta pré-parto. O nível -150 tendeu a reduzir o risco de retenção de placenta e HSC, porém, com a mesma resposta em produção de leite. Já quanto a duração da suplementação acidogênica, nossos resultados sugerem que 3 semanas de DCAD negativo no pré-parto já são suficientes para colher os benefícios das dietas acidogênicas.

#### 4 REFERÊNCIAS

- ABEL, M. et al. Regulation of the epithelial Ca<sup>2+</sup> channels in small intestine as studied by quantitative mRNA detection. *The American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, v.285, p.G78-G85, 2003.
- AOAC International. 2017. Official Methods of Analysis. 19th ed. AOAC International, Arlington, VA
- ARSHAD, U., ZENOBI, M. G., STAPLES, C. R. and SANTOS, J. E. P. Meta-analysis of the effects of supplemental rumen-protected choline during the transition period on performance and health of parous dairy cows. *Journal of Dairy Science*. v.103, p. 282-300, 2019.
- BAUMAN, D. E. Bovine somatotropin and lactation: from basic science to commercial application. *Domestic Animal Endocrinology*. v.17, p.101-166, 1999.

- BAUMAN, D. E., and CURRIE, W. B. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *Journal of Dairy Science*. v.63, p.1514-1529, 1980.
- BEEDE, D. K. Dietary cation-anion difference: Preventing milk fever. *Feed Management*, v.43, p.28-31, 1992.
- BELL, A. W. 1995. 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. Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk fever. *Journal of Dairy Science*, v.67, p.2939-2948, 1984.
- BOX, G., and COX, D. An analysis of transformations. *J. Royal Stat. Soc. B*. v.26, p.211-243, 1964.
- BRONNER, F. Intestinal calcium absorption: Mechanisms and applications. *The Journal of Nutrition*, v.117, p.1347-135, 1987.
- CAIXETA, L. S., OSPINA, P. A., CAPEL, M. B., and NYDAM, D. V. Association between subclinical hypocalcemia in the first 3 days of lactation and reproductive performance of dairy cows, *Theriogenology*. v.94, p.1-7, 2017.
- CAPUCO, A. V., AKERS, R. M. and SMITH, J. J. Mammary growth in Holstein cows during the dry period: Quantification of nucleic acids and histology. *Journal of Dairy Science*. v.80, p.477-487, 1997.
- CARNEIRO, E. W. Efeito do uso de formiato de cálcio via oral no pós-parto imediato sobre a hipocalcemia em vacas leiteiras. Tese de doutorado. Universidade Federal do Paraná – PR. p.134. 2018.
- CARRARI, I. F. et al. Milk fat to protein ration in the first test-day after calving on dairy cows. *Ciência Rural*. v.53, 2023.

- CARVALHO, M. R. et al. Long-term effects of postpartum clinical disease on milk production, reproduction, and culling of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.102, p.11701-11717, 2019.
- CAVALIERI, F.L.B., e SANTOS, G.T.D. Balanço catiônico-aniônico em vacas leiteiras no pré-parto, 2001.
- CHAPINAL, N. et al. The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. *Journal of Dairy Science*, v.95, p.1301-1309, 2012.
- CHAPINAL, N. et al. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period, *Journal of Dairy Science*, v.94, p.4897-4903, 2011.
- CHARBONNEAU, E., PELLERIN, D. and OETZEL, G. R. Impact of lowering dietary cation-anion difference in nonlactating dairy cows: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, v.89, p.537-548, 2006.
- CHEBEL, R. C., MENDONÇA, L. G. D. and BARUSELLI, P. S. Association between body condition score change during the dry period and postpartum health and performance. *Journal of Dairy Science*, v.101, p.4595-4614, 2018.
- CHEW, B. P., ERB, R. E., FESSLER, J. F., CALLAHAN, C. J., and MALVEN, P. V. Effects of ovariectomy during pregnancy and of prematurely induced parturition on progesterone, estrogens, and calving traits. *Journal of Dairy Science*, v.62, p.557-566, 1979.
- CONSTABLE, P. D., MEGAHED, A. A. and HIEW, M. W. H. Measurement of urine pH and net acid excretion and their association with urine calcium excretion in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*. v.102, p. 11370-11383, 2019.

- COUTO SERRENHO, R. et al. Controlled trial of the effect of negative dietary cation-anion difference prepartum diets on milk production, reproductive performance, and culling of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. v.104, 2021.
- CURTIS, C. R. et al. Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. *Journal of The American Veterinary Medical Association*, v.183, p.559-561, 1983.
- DEGARIS, P. J., and LEAN, I. J. Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. *The Veterinary Journal*, v.176, p.58-69, 2008.
- DEGROOT, M. A., E. BLOCK, and P. D. FRENCH. Effect of prepartum anionic supplementation on periparturient feed intake, health, and milk production. *Journal of Dairy Science*. 93:5268–5279, 2010.
- DRACKLEY, J.K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *Journal of Dairy Science*, v.82, p.2259-2273, 1999.
- ENDER, F., and DISHINGTON, I. W. Comparative studies on calcium balance levels in parturient cows fed diets inducing and preventing milk fever. Pp. 557A in XVIII th World Veterinary Congress, Vol. II. Paris, 1967.
- ENDER, F., DISHINGTON, I. W. and HELGEBOSTAD, A. Calcium balance studies in dairy cows under experimental induction and prevention of hypocalcaemic paresis puerperalis. *Z. Tierernahr. Futtermittelkd.* v.28, p.233-256, 1971.
- FILLUS, A. M. Calcemia e ruminação em vacas Jersey recém-paridas em rebanho com ordenha robotizada. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná. p.56, 2021.
- GOFF, J. P. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Veterinary Journal*, v.176, p.50-57, 2008.

- GOFF, J. P., and HORST, R. L. Use of hydrochloric acid as a source of anions for prevention of milk fever. *Journal of Dairy Science*, v.81, p.2874-2880, 1998.
- GOFF, J. P., HORST, R. L. MUELLER, F. J. and MILLER, J. K. Addition of chloride to a prepartal diet high in cations increases 1,25-dihydroxyvitamin D response to hypocalcemia preventing milk fever. *Journal of Dairy Science*, v.74, p.3863-3871, 1991.
- GOFF, J. P., KEHRLI JR., M. E., and HORST, R. L. Periparturient hypocalcemia in cows: Prevention using intramuscular parathyroid hormone. *Journal of Dairy Science*, v.72, p.1182-1187, 1989.
- GOFF, J. P., KIMURA, K., and HORST, R. L. Effect of mastectomy on milk fever, energy, and vitamins A, E, and  $\beta$ -carotene status at parturition. *Journal of Dairy Science*, v.85, p.1427-1436, 2002.
- GOFF, J. P., LIESEGANG, A., and HORST, R. L. Diet-induced pseudohypoparathyroidism: a hypocalcemia and milk fever risk factor. *Journal of Dairy Science*, v.97, p.1520-1528, 2014.
- GOFF, J. P., LITLEDIKE, E. T., and HORST, R. L. Effect of synthetic bovine parathyroid hormone in dairy cows: Prevention of hypocalcemic parturient paresis. *Journal of Dairy Science*, v.69, p.2278-2289, 1986.
- GOFF, J. P., REINHARDT, T. A., BEITZ, D. C., and HORST, R. L. Breed affects tissue vitamin D receptor concentration in periparturient dairy cows: A milk fever risk factor? *Journal of Dairy Science*, v.78, (Suppl. 1):184, 1995.
- GOFF, J. P., RUIZ, R., and HORST, R. L. Relative acidogenic activity of commonly used anionic salts rethinking the dietary cation-anion difference equations. *Journal of Dairy Science*, v.80, (Suppl. 1):169, 1997.

- 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.
- HANSEN, S. S., JENSEN, A. L., and JORGENSEN, R. J. Evaluation of a Transportable [Ca<sup>++</sup>] and pH Analyser and of the Impact of Different Anticoagulants and Sampling Sites in Cattle. *Journal of Veterinary Medicine*, v.47, p.541-551, 2000.
- HAYIRLI, A., GRUMMER, R. R., NORDHEIM, E. V., and CRUMP, P. M. Animal and dietary factors affecting feed intake during the prefresh transition period in Holsteins. *Journal of Dairy Science*, v.85, p.3430-3443, 2002.
- HERDT, T. H. Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. v.16, p.215-230, 2000.
- HEUER, C., SCHUKKEN, Y. H., and DOBBELAAR, P. Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science*, v.82, p.295-304, 1999.
- HOENDEROP, J. G. J. et al. Molecular identification of the apical Ca<sup>2+</sup> channel in 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>-responsive epithelia. *Journal of Biological Chemistry*, v.274, p.8375-8378, 1999.
- HORST, E. A., KVIDERA, S. K. and BAUMGARD, L. H. Invited review: The influence of immune activation on transition cow health and performance - A critical evaluation of traditional dogmas. *Journal of Dairy Science*. v.108, 2021.
- HORST, R. L., GOFF, J. P., and REINHARDT, T. A. Adapting to the transition between gestation and lactation: Differences between rat, human and dairy cow. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, v.10, p.141-156, 2005.

- HORST, R. L., GOFF, J. P., and REINHARDT, T. A. Advancing age results in reduction of intestinal and bone 1,25-dihydroxyvitamin D receptor. *Journal of Endocrinology*, v.126, p.1053-1057, 1990.
- HORST, R. L., GOFF, J. P., and REINHARDT, T. A. Calcium and vitamin D metabolism in dairy cow. *Journal of Dairy Science*, v.77, p.1936-1951, 1994.
- HORST, R. L., GOFF, J. P., REINHARDT, T. A., and BUXTON, D. R. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v.80, p.1269-1280, 1997.
- HOUSE, W. A., and BELL, A. W. Mineral accretion in the fetus and adnexa during late gestation in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, v.76, p.2999-3010, 1993.
- HU, W., and MURPHY, M. R. Dietary cation-anion difference effects on performance and acid-base status of lactating dairy cows: a meta-analysis. *Journal of Dairy Science*. v.87, p.2222-2229, 2004.
- JARDON, P. W. Using urine pH to monitor anionic salt programs. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian*, v.17, p.860-862, 1995.
- JAWOR, P. E., HUZZEY, J. M., LEBLANC, S. J. and VON KEYSERLINGK, M. A. G. Associations of subclinical hypocalcemia at calving with milk yield, and feeding, drinking, and standing behaviors around parturition in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. v.95, p.1240-1248, 2012.
- Jørgensen, E., and A. R. Pedersen. How to obtain those nasty standard errors from transformed data – and why they should not be used. Page 20 in Biometry Research Unit - Internal Report 7. *Danish Institute of Agricultural Sciences*, 1998.
- JUNQUEIRA, L. C. U., e CARNEIRO, J. Tecido ósseo e Histologia básica. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. Cap. 8, p.131-148, 2013.

- KUNZ, P. L., BLUM, J. W., HART, I. C., BICKEL, H., and LANDIS, J. Effects of different energy intakes before and after calving on food intake, performance and blood hormones and metabolites in dairy cows. *Animal Production*, v.40, p.219-231, 1985.
- KUSHNER, I., and MACKIEWICZ, A. Acute phase proteins as disease markers. *Dis. Markers*. v.5, p.1-11, 1987.
- LEAN, I. J. et al. Influencing the future: Interactions of skeleton, energy, protein and calcium during late gestation and early lactation. *Animal Production Science*, v.54, p.1177-1189, 2014.
- LEAN, I. J., DEGARIS, P. J., MCNEIL, D. M., and BLOCK, E. Hypocalcemia in dairy cows: Meta-analysis and dietary cation anion difference theory revisited. *Journal of Dairy Science*, v.89, p.669-684, 2006.
- LEAN, I. J., SANTOS, J. E. P., BLOCK, E., GOLDBERGER, H. M. Effects of prepartum dietary cation-anion difference intake on production and health of dairy cows: a meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, v.102, p.2103-2133, 2019.
- LEBLANC, S. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *Journal of Reproduction and Development*, v.56(S), p.S29-35, 2010.
- LENO, B. M. C. M., RYAN, T., STOKOL, D., KIRK, K. P., ZANZALARI, J. D. Chapman, and T. R. Overton. Effects of prepartum dietary cation-anion difference on aspects of peripartum mineral and energy metabolism and performance of multiparous Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 100:4604– 4622, 2017.
- LOPERA, C. et al. Effects of level of dietary cation-anion difference and duration of prepartum feeding on performance and metabolism of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.101, p.7907-7929, 2018.

- MARTINEZ, N. et al. Effects of prepartum dietary cation-anion difference and source of vitamin D on dairy cows: Health and reproductive responses. *Journal of Dairy Science*, v.101, p.2563-2578, 2018b.
- MARTINEZ, N. 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.
- MARTÍN-TERESO, J., and MARTENS, H. Calcium and magnesium physiology and nutrition in relation to the prevention of milk fever and tetany (dietary management of macrominerals in preventing disease). *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.30, p.643-670, 2014.
- MCART, J. A. A., and NEVES, R. C. Association of transient, persistent, or delayed subclinical hypocalcemia with early lactation disease, removal, and milk yield in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, v.103, p.690-701, 2020.
- MCART, J. A. A., NYDAM, D. V., OETZEL, G. R., OVERTON, T. R., and OSPINA, P. A. Elevated non-esterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate and their association with transition dairy cow performance. *The Veterinary Journal*, v.198, p.560-570, 2013.
- MOORE, S. J. et al. 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.
- NASEM, 2021. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 8<sup>th</sup> rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- NEVES, R. C. et al. Association of immediate postpartum plasma calcium concentration with early-lactation clinical diseases, culling, reproduction, and milk production in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, v.101, p.547-555, 2018b.

- NEVES, R. C. et al. Risk factors associated with postpartum subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.100, p.3796-3804, 2017.
- NEVES, R. C., LENO, B. M., BACH, K. D., and MCART, J. A. A. Epidemiology of subclinical hypocalcemia in early-lactation Holstein dairy cows: The temporal associations of plasma calcium concentration in the first 4 days in milk with disease and milk production. *Journal of Dairy Science*, v.101, p.9321-9331, 2018a.
- NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- OETZEL, G. R. Diagnosis and management of subacute ruminal acidosis in dairy herds. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, v.33, p.463-480, 2017.
- OETZEL, G. R. Effect of calcium chloride gel treatment in dairy cows on incidence of periparturient diseases. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.209, p.958-961, 1996.
- OETZEL, G. R. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.20, p.651-674, 2004.
- OETZEL, G. R., and BARMORE, J. A. Intake of a concentrate mixture containing various anionic salts fed to pregnant, non-lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.76, p.1617-1623, 1993.
- OETZEL, G. R., FETTMAN, M. J., HAMAR, D. W., OLSON, J. D. Screening of anionic salts for palatability, effects on acid-base status, and urinary calcium excretion in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.74, p.965-971, 1991.
- OETZEL, G. R., OLSON, J. D., CURTIS, C. R., and FETTMAN, M. J. Ammonium chloride and ammonium sulfate for prevention of parturient paresis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.71, p.3302-3309, 1988.

- PENG, J. et al. Molecular cloning and characterization of a channel-like transporter mediating intestinal calcium absorption. *Journal of Biological Chemistry*, v.274, p.22739-22746, 1999.
- PIEPHO, H. P. Data transformation in statistical analysis of field trials with changing treatment variance. *Agronomy Journal*, v.101, p.865-869, 2009.
- RAJALA-SCHULTZ, P. J., Y. T. Grohn, and C. E. McCulloch. Effects of milk fever, ketosis, and lameness on milk yield in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. v.82, p.288-294, 1999.
- RAMBERG, C. F., JOHNSON, E. K., FARGO, R. D. and KRONFELD, D. S. Calcium homeostasis in cows, with special reference to parturient hypocalcemia. *The American Physiological Society*. 1984.
- REINHARDT, T. et al. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *The Veterinary Journal*, v.188, p.122-124, 2011.
- ROCHE, J. R. et al. Invited review: body condition score and its association with dairy cow productivity, health and welfare. *Journal of Dairy Science*. v.92, p.5769-5801, 2009.
- ROCHE, J. R., and BERRY, D. P. Periparturient climatic, animal, and management factors influencing the incidence of milk fever in grazing systems. *Journal of Dairy Science*, v.89, p.2775-2783, 2006.
- RODNEY, R. M. et al. Effects of prepartum dietary cation-anion difference and source of vitamin D in dairy cows: Vitamin D, mineral, and bone metabolism. *Journal of Dairy Science*, v.101, p.2519-2543, 2018.
- RODRIGUEZ, E. M., ARÍS, A., and BACH, A. Associations between subclinical hypocalcemia and postparturient diseases in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.100 p.7427-7434, 2017.

- SANTOS, J. E. P., LEAN, I. J., GOLDER, H., and BLOCK, E. Meta-analysis of the effects of prepartum dietary cation-anion difference on performance and health of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.102, p.2134-2154, 2019.
- SARWAR, M., ZIA-UL-HASAN, IQBAL, Z. Dietary Cation Anion Balance in the Ruminants I - Effects on Milk Fever. *International Journal of Agriculture & Biology*, v.2, p.151-158, 2000.
- SEELY, C. R. et al. Association of subclinical hypocalcemia dynamics with dry matter intake, milk yield, and blood minerals during the periparturient period. *Journal of Dairy Science*, v.104, p.4692-4702, 2020.
- SEJERSEN, H., SORENSEN, M. T., LARSEN, T., BENDIXEN, E., and INGVARTSEN, K. L. Liver protein expression in dairy cows with high liver triglycerides in early lactation. *Journal of Dairy Science*, v.95, p.2409-2421, 2012.
- SHELDON, I. M., CRONIN, J., GOETZE, L., DONOFRIO, G., and SCHUBERTH, H. J. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biology of Reproduction*, v.81, p.1025-1032, 2009.
- STRNAD, P., TACKE, F., KOCH, A. and TRAUTWEIN, C. Liver - Guardian, modifier and target of sepsis. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* v.14, p.55-66, 2017.
- THILSING-HANSEN, T., JOGENSEN, R. J., and OSTERGAARD, S. Milk fever control principles: A review. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v.43, p.1-19, 2002.
- TREVISI, E., and MINUTI, A. Assessment of the innate immune response in the periparturient cow. *Research in Veterinary Science*, v.116, p.47-54, 2017.
- TUCKER, W. B. et al. Role of sulfur and chloride in the dietary cation-anion balance equation for lactating dairy cattle. *Journal of Animal Science*, v.69, p.1205-1213, 1991.

- VAGNONI, D. B., and OETZEL, G. R. Effects of dietary cation-anion difference on the acid-base status of dry cows. *Journal of Dairy Science*, v.81, p.1643-1652, 1998.
- VENJAKOB, P. L., BORCHARDT, S., and HEUWIESES, W. Hypocalcemia-Cow-level prevalence and preventive strategies in German dairy herds. *Journal of Dairy Science*, v.100, p.9258-9266, 2017.
- VENJAKOB, P. L., PIEPER, L., HEUWIESER, W. and BORCHARDT, S. Association of postpartum hypocalcemia with early-lactation milk yield, reproductive performance, and culling in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. v.101, p.9396-9405, 2018.
- VIEIRA NETO, A., DUARTE, G. A., ZIMPEL, R., THATCHER, W. W., SANTOS, J. E. P. Days in the prepartum group are associated with subsequent performance in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, v.104, p.5964-5978, 2021.
- VIEIRA-NETO, A. et al. Use of calcitriol to maintain postpartum blood calcium and improve immune function in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.100, p.5805-5823, 2017b.
- VIEIRA-NETO, A., GALVÃO, K. N., THATCHER, W. W., and SANTOS, J. E. P. Association among gestation length and health, production, and reproduction in Holstein cows and implications for their offspring. *Journal of Dairy Science*, v.100, p.3166-3181, 2017a.
- WEICH, W., BLOCK, E., and LITHERLAND, N. B. Extended negative dietary cation-anion difference feeding does not negatively affect postpartum performance of multiparous dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.96, p.5780-5792, 2013.
- WILDMAN, E. E. et al. 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to standard production characteristics. *Journal of Dairy Science*, v.65, p.495-501, 1982.

- WILKENS, M. R. et al. Influence of the combination of 25- hydroxyvitamin D-3 and a diet negative in cation-anion difference on peripartal calcium homeostasis of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.95, p.151-164, 2012.
- WU, Z., BERNARD, J. K., ZANZALARI, K. P., CHAPMAN, J. D. Effect of feeding a negative dietary cation-anion difference diet for an extended time prepartum on postpartum serum and urine metabolites and performance. *Journal of Dairy Science*, v.97, p.7133-7143, 2014.
- YOUSEF, M. K. 1985. Stress Physiology in Livestock. 1st ed. CRC PressInc., Boca Raton, FL.
- ZHANG, B. et al. Effects of ORAI calcium release-activated calcium modulator 1 (ORAI1) on neutrophil activity in dairy cows with subclinical hypocalcemia. *Journal of Animal Science*, v.97, p.3326-3336, 2019.
- ZIMPEL, R. et al. Effect of dietary cation-anion difference on acid-base status and dry matter intake in dry pregnant cows. *Journal of Dairy Science*, v.101, p.8461-8475, 2018.
- ZIMPEL, R. et al. Prepartum level of dietary cation-anion difference fed to nulliparous cows: Lactation and reproductive responses. *Journal of Dairy Science*, v.104, p.11699-11714, 2021.

Tabela 1. Composição dos ingredientes das dietas pré e pós-parto

Ingrediente, % da MS	Pré-parto		Pós-parto
	-50	-150	
Silagem de milho	60,8	59,8	37,2
Silagem de aveia	7,1	7,0	--
Palha de trigo	4,9	4,8	--
Pré-secado de azevém	--	--	6,2
Farelo de soja	14,9	14,6	13,6
Farelo de soja de baixa degradabilidade <sup>1</sup>	5,1	5,1	--
Grãos secos de destilaria com solúveis	--	--	6,0
Casca de soja	--	--	1,1
Levedura líquida	2,1	2,1	1,7
Resíduo de cervejaria	--	--	5,2
Silagem de grão úmido de milho	--	--	14,1
Milho grão moído	--	--	2,8
Caroço de algodão	--	--	5,5
Açúcar	--	--	2,0
Sais cálcicos de ácidos graxos <sup>2</sup>	--	--	0,8
Produto acidogênico <sup>3</sup> A	1,2	1,2	--
Produto acidogênico <sup>4</sup> B	1,3	2,8	--
Núcleo micromineral e vitamínico pré-parto <sup>5</sup>	0,4	0,4	--
Núcleo mineral e vitamínico lactação <sup>6</sup>	--	--	2,7
Colina protegida ruminalmente <sup>7</sup>	0,3	0,3	--
Adsorvente de micotoxinas <sup>8</sup>	0,2	0,2	0,3
Metionina protegida ruminalmente <sup>9</sup>	0,1	0,1	0,1
Calcário	1,6	1,6	--
Cloreto de potássio	--	--	0,3
Bicarbonato de sódio	--	--	0,4

<sup>1</sup>Soypass (Cargil®).

<sup>2</sup>Nutrigordura (Nutricorp®).

<sup>3</sup>Bovigold®: 10,6% Ca, 3,0% P, 9,0% S, 2,0% Mg, 3,1% Na, 13,0% Cl, 12,0 mg/kg Co, 600,0 mg/kg Cu, 30,0 mg/kg Cr, 600,0 mg/kg Fe, 60,0 mg/kg I, 1.600,0 mg/kg Mn, 16,0 mg/kg Se, 2.400,0 mg/kg Zn, 80,0 mg/kg biotina, 480.000,0 UI/kg vitamina A, 200.000,0 UI/kg vitamina D, 12.000,0 UI/kg vitamina E, 1,5 x 10<sup>9</sup> UFC/kg *Saccharomyces cerevisiae*, 500,0 mg/kg monensina, 300,0 mg/kg F.

<sup>4</sup>Animate®: 38,2% PB, 1,4% Ca, 13,9% Cl, 5,5% S, 0,4% P, 0,6% K, 4,8% Mg, 0,3% Na, 109,0 mg/kg Fe, 71,4 mg/kg Zn, 21,9 mg/kg Cu, 39,8 mg/kg Mn, 0,5 mg/kg Se, 0,2 mg/kg Co.

<sup>5</sup>Conteúdo: 1.679 mg/kg Cu, 4.399 mg/kg Mn, 7.197 mg/kg Zn, 172 mg/kg I, 46 mg/kg Co, 50 mg/kg Se, 1.429.610 UI/kg de Vit. A, 604.830 UI/kg de Vit. D3, 32.991 UI/kg de Vit. E, 1.409,0 mg/kg monensina.

<sup>6</sup>Conteúdo: 17,5% Ca, 1,7% P, 4,0% Mg, 8,6% Na, 0,1% Cl, 2,2% S, 2.240,0 mg/kg Zn, 400,0 mg/kg Cu, 16,0 mg/kg I, 1.120,0 mg/kg Mn, 11,2 mg/kg Co, 14,4 mg/kg Se, 16,0 mg/kg Cr, 160.000,0 UI/kg Vit A, 57.600 UI/kg Vit. D3, 960,0 UI/kg Vit. E, 64,0 mg/kg biotina, 480,0 mg/kg monensina.

<sup>7</sup>Cholipearl (Kemin®).

<sup>8</sup>Mycosorb (Alltech®).

<sup>9</sup>Smartamine (Adisseo®).

Tabela 2. Composição dos nutrientes das dietas pré e pós-parto

Item	Pré-parto		Pós-parto
	-50	-150	
MS, %	39,7	40,1	46,1
PB, %	16,3	16,6	17,8
FDN, %	32,8	32,5	28,8
FDN forragem, %	29,3	28,9	17,1
FDA, %	18,1	17,9	16,0
EE, %	2,8	2,8	5,1
CNF <sup>1</sup> , %	40,9	40,3	42,2
Amido, %	23,9	23,6	26,7
Cinzas, %	8,4	8,6	7,8
Ca, %	1,16	1,16	0,79
P, %	0,30	0,30	0,40
Mg, %	0,32	0,38	0,30
K, %	1,11	1,10	1,05
Na, %	0,09	0,09	0,38
Cl, %	0,62	0,81	0,35
S, %	0,36	0,43	0,25
DCAD <sup>2</sup> , mEq/kg	-73,2	-174,7	178,7

<sup>1</sup>Calculado da seguinte forma:  $CNF = 100 - (PB + EE + (FDN - PIDN) + Cinzas)$ .

<sup>2</sup>Calculado da seguinte forma:  $DCAD = [(mEq K) + (mEq Na)] - [(mEq Cl) + (mEq S)]$ .

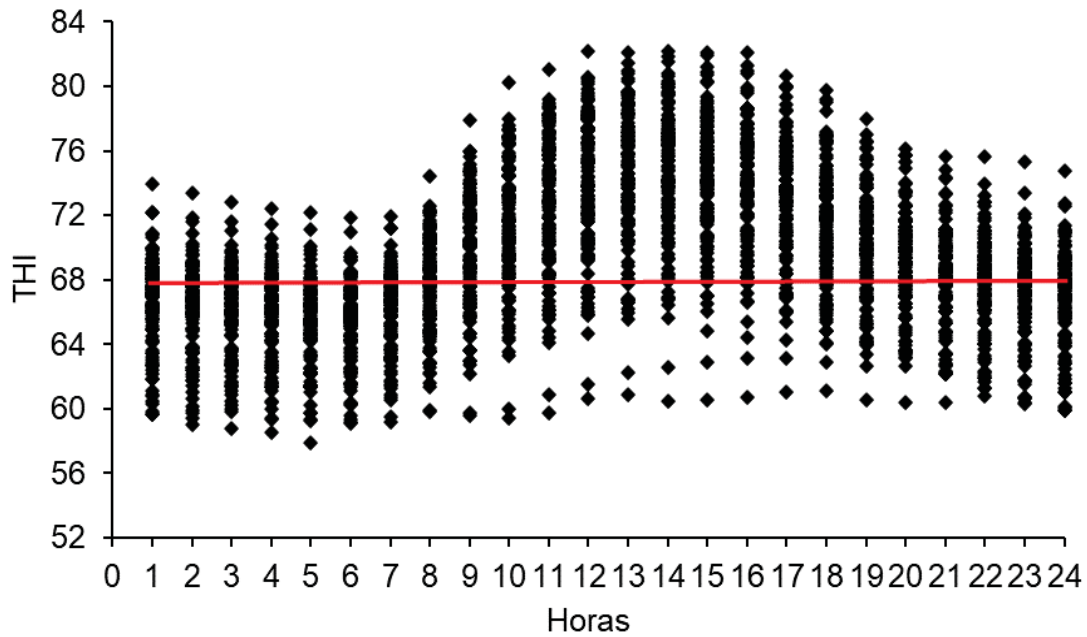


Figura 1. Índice de Temperatura e Umidade (THI) dentro do barracão nível -50 durante o pré-parto. 2688 gravações em intervalos de 60 minutos. THI:  $69,4 \pm 4,67$  (média  $\pm$  DP). Proporção THI > 68: 58,6% das vezes. Temperatura:  $21,8 \pm 4,01$  °C. Umidade:  $78,9 \pm 11,21\%$ .

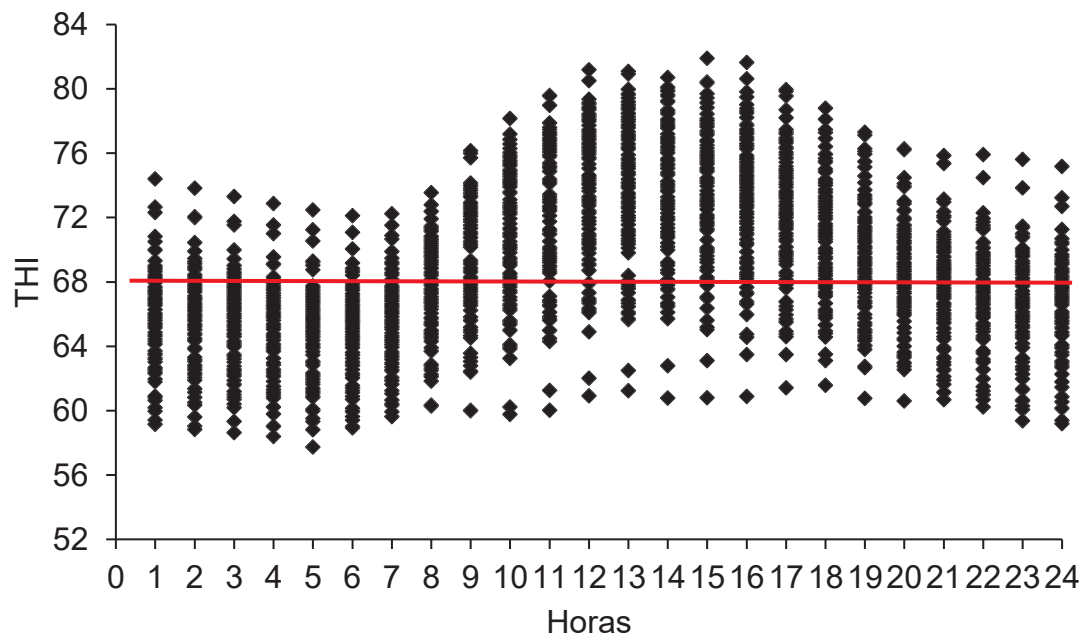


Figura 2. Índice de Temperatura e Umidade (THI) dentro do barracão nível -150 durante o pré-parto. 2688 gravações em intervalos de 60 minutos. THI:  $69,0 \pm 4,59$  (média  $\pm$  DP). Proporção THI > 68: 53,1% das vezes. Temperatura:  $21,3 \pm 3,93$  °C. Umidade:  $82,1 \pm 11,62\%$ .

Tabela 3. Descrição dos animais inscritos, motivos de exclusão e animais incluídos nas análises estatísticas de acordo com a paridade

Item	Tratamentos <sup>1</sup>				Total
	3W-50	3W-150	4W-50	4W-150	
Inscritos	49	49	49	49	196
Paridade					
Primípara	21	21	21	21	84
Multipara	28	28	28	28	112
Excluídos	8	5	4	2	19
Aborto	2	3	1	2	8
Morte	1	0	0	0	1
Doente	1	0	0	0	1
Feto mumificado	0	0	1	0	1
Pouco tempo no tratamento atribuído (<10d)	3	2	2	0	7
Não pariu até a data final do teste	1	0	0	0	1
Incluídos na análise estatística	42	43	46	46	177
Paridade					
Primípara	19	19	20	18	76
Multipara	23	24	26	28	101

<sup>1</sup>Vacas leiteiras alimentadas com dois níveis de DCAD negativa (-50 ou -150 mEq/kg de MS) e dois períodos de duração (3W ou 4W) da suplementação acidogênica no pré-parto.

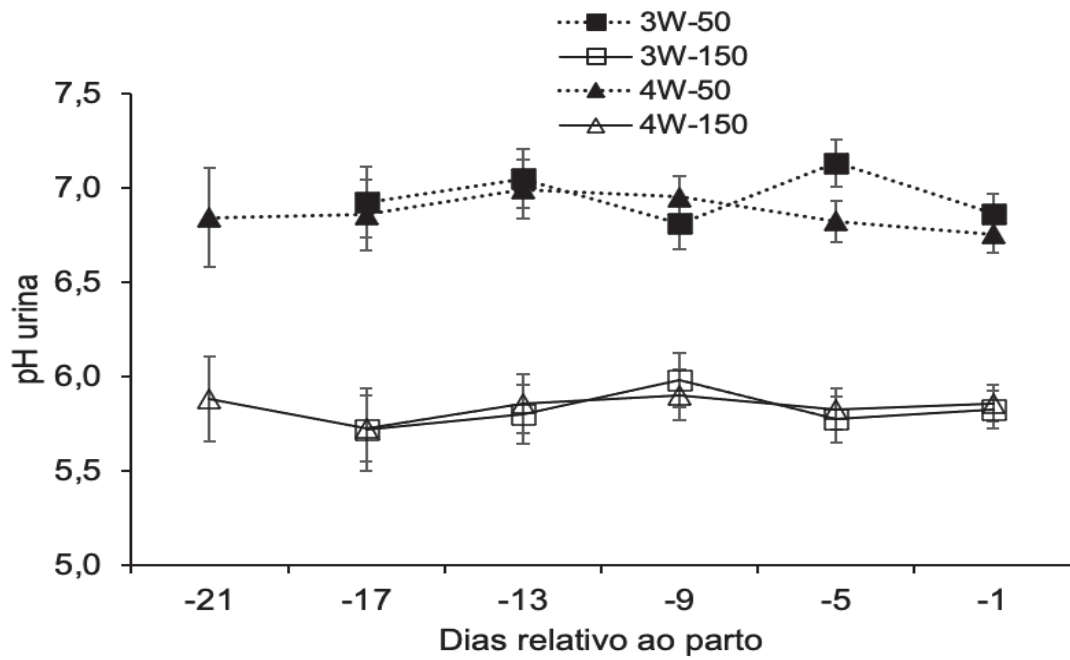


Figura 3. pH de urina em relação ao parto, de vacas leiteiras alimentadas com dois níveis de DCAD negativa (-50 ou -150 mEq/kg de MS) e dois períodos de duração (3W ou 4W) da suplementação acidogênica no pré-parto. A média ajustada e o EPM foram: 3W-50=  $7,04 \pm 0,096$ ; 3W-150 =  $5,82 \pm 0,099$ ; 4W-50 =  $6,87 \pm 0,083$ ; e 4W-150 =  $5,84 \pm 0,081$ . Efeito da duração ( $P = 0,38$ ), de nível ( $P < 0,01$ ) e interações entre duração, nível e dia ( $P = 0,42$ ). As barras de erro representam o EPM.

Tabela 4. Efeitos da duração e do nível de DCAD da dieta acidogênica do pré-parto no pH de urina, duração dos períodos pré e pós-parto e duração da gestação

Item	3W		4W		EPM	Duração	Nível	Duração x Nível
	-50	-150	-50	-150				
pH urinário <sup>1</sup>	7,04	5,82	6,87	5,84	0,07	0,38	<0,01	0,24
Duração tratamento pré-parto, d	26,1	24,8	30,6	32,3	0,6	<0,01	0,82	0,09
Lactação prévia, kg	11928	12023	12117	11876	263	0,95	0,84	0,64
Duração lactação prévia, d	344,5	351,0	355,3	350,0	9,8	0,71	0,96	0,65
Duração período seco, d	69,9	63,9	66,2	72,9	2,4	0,41	0,91	0,06
Dias de gestação no início experimento, d	252,8	253,2	246,0	245,8	0,3	<0,01	0,62	0,08
Duração gestação, d	278,8	278,0	276,8	278,5	0,6	0,31	0,56	0,10
Duração lote pós-parto, d	20,6	20,8	20,9	20,2	0,6	0,84	0,68	0,45
d-7 real <sup>2</sup> , d	10,8	10,0	8,7	10,7	0,6	0,31	0,56	0,10

<sup>1</sup>pH de urina coletados nos dias -21, -17, -13, -9, -5 e -1 em relação ao parto.

<sup>2</sup>Dia real de coleta de sangue no pré-parto.

Tabela 5. Efeitos da duração e do nível de DCAD da dieta acidogênica do pré-parto no peso corporal e escore de condição corporal e peso da cria de vacas leiteiras

Item	3W		4W		EPM	Duração	Valor P	
	-50	-150	-50	-150			Nível	Duração x Nível
Peso corporal, kg								
Pré-parto	701,5	703,0	732,3	719,7	9,2	0,01	0,54	0,44
Parto	732,2	733,9	752,4	744,8	9,0	0,08	0,74	0,60
Pós-parto	667,8	673,0	678,3	673,7	10,4	0,56	0,98	0,60
Mudança <sup>1</sup>	-34,3	-31,0	-49,6	-44,7	8,6	0,07	0,61	0,92
Peso cria	38,6	37,8	36,6	37,8	0,6	0,28	0,81	0,26
ECC, escala 1 a 5								
Pré-parto	3,51	3,43	3,42	3,46	0,04	0,41	0,65	0,14
Parto	3,55	3,52	3,54	3,55	0,04	0,69	0,82	0,59
Pós-parto	2,900	2,856	2,904	2,898	0,04	0,65	0,62	0,71
Mudança <sup>2</sup>	-0,62	-0,57	-0,51	-0,54	0,04	0,13	0,93	0,41

<sup>1</sup>Mudança no peso corporal calculada pela diferença entre o pós-parto e o pré-parto.

<sup>2</sup>Mudança no ECC calculado pela diferença entre o pós-parto e o pré-parto.

Tabela 6. Efeitos da duração e do nível de DCAD da dieta acidogênica no pré-parto no desempenho produtivo de vacas leiteiras

Item	3W		4W		Valor P			
	-50	-150	-50	-150	EPM	Duração	Nível	Duração x Nível
Produção de leite <sup>1</sup> , kg/d	47,42	46,10	46,95	46,85	0,84	0,91	0,55	0,60
Produção de leite <sup>2</sup> , kg/d	41,60	42,16	42,47	40,55	0,92	0,78	0,60	0,34
PLCE, kg/d	43,29	43,54	44,61	42,38	0,99	0,95	0,48	0,37
PLC4%Gor, kg/d	40,75	40,95	41,77	40,09	0,95	0,95	0,58	0,48
Gordura, kg/d	1,61	1,51	1,66	1,59	0,05	0,29	0,19	0,80
Proteína, kg/d	1,44	1,42	1,48	1,39	0,03	0,75	0,18	0,38
Lactose, kg/d	2,00	1,99	2,05	1,94	0,05	0,96	0,33	0,44
Sólidos totais, kg/d	5,34	5,40	5,50	5,22	0,12	0,95	0,51	0,31
Caseína, kg/d	1,14	1,11	1,18	1,11	0,03	0,48	0,10	0,49
Gordura, %	3,87	3,65	3,99	3,90	0,08	0,06	0,14	0,54
Proteína, %	3,39	3,39	3,52	3,41	0,04	0,23	0,35	0,34
Lactose, %	4,70	4,67	4,66	4,64	0,02	0,12	0,40	0,86
Sólidos totais, %	12,90	12,82	13,20	12,91	0,09	0,12	0,14	0,39
Caseína, %	2,70	2,69	2,76	2,73	0,03	0,29	0,65	0,71
NUL, mg/dL	13,77	13,32	15,78	13,59	0,59	0,10	0,05	0,20
CCS Ln <sup>3</sup>	2,06	1,60	2,31	2,30	0,22	0,11	0,41	0,44
Colostro, kg	5,46	4,73	5,06	5,16	0,27	0,97	0,41	0,28
Brix colostro	25,54	24,94	25,41	26,26	0,44	0,34	0,83	0,25

<sup>1</sup>Produção de leite nas primeiras 14 semanas de lactação.

<sup>2</sup>Produção de leite média referente ao dia de coleta de amostras de leite para análise de composição.

<sup>3</sup>CCS Linear = - 3,6438 + 1,4427 \* Ln (CCS).

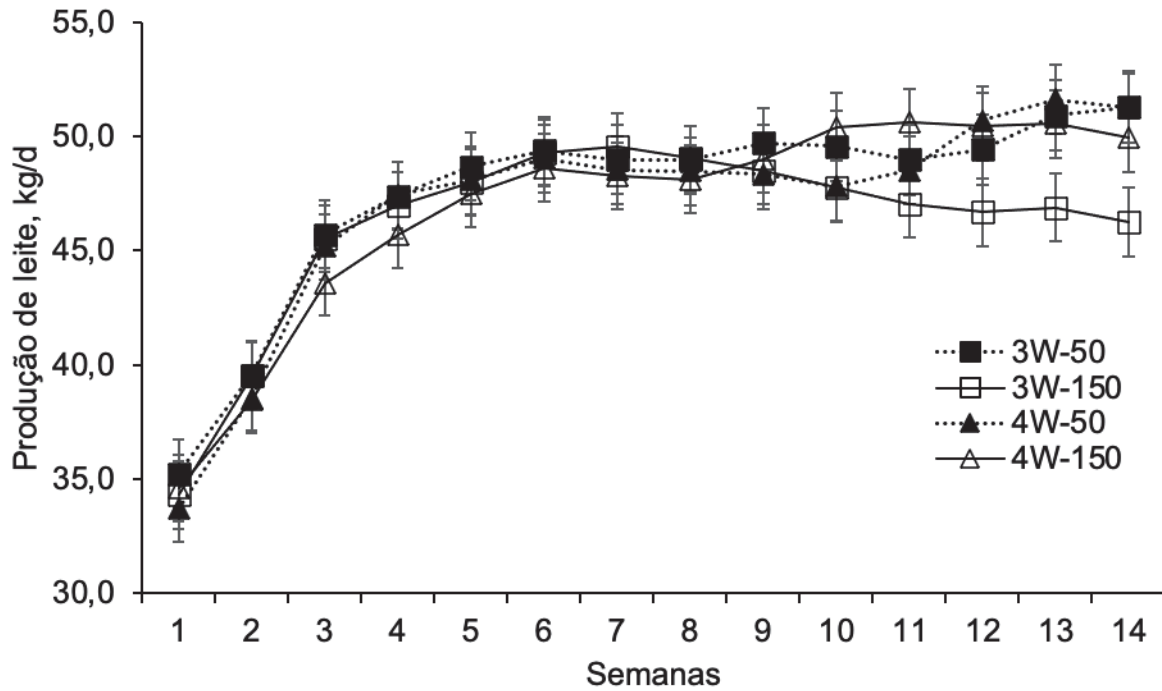


Figura 4. Produção de leite (kg/d) nas primeiras 14 semanas de lactação, de vacas leiteiras alimentadas com dois níveis de DCAD negativa (-50 ou -150 mEq/kg de MS) e dois períodos de duração (3W ou 4W) da suplementação acidogênica no pré-parto. A média ajustada e o EPM foram: 3W-50 =  $47,4 \pm 1,51$ ; 3W-150 =  $46,1 \pm 1,47$ ; 4W-50 =  $46,9 \pm 1,48$ ; 4W-150 =  $46,8 \pm 1,47$  kg/d. Interações entre duração, nível e dia ( $P = 0,57$ ). As barras de erro representam o EPM.

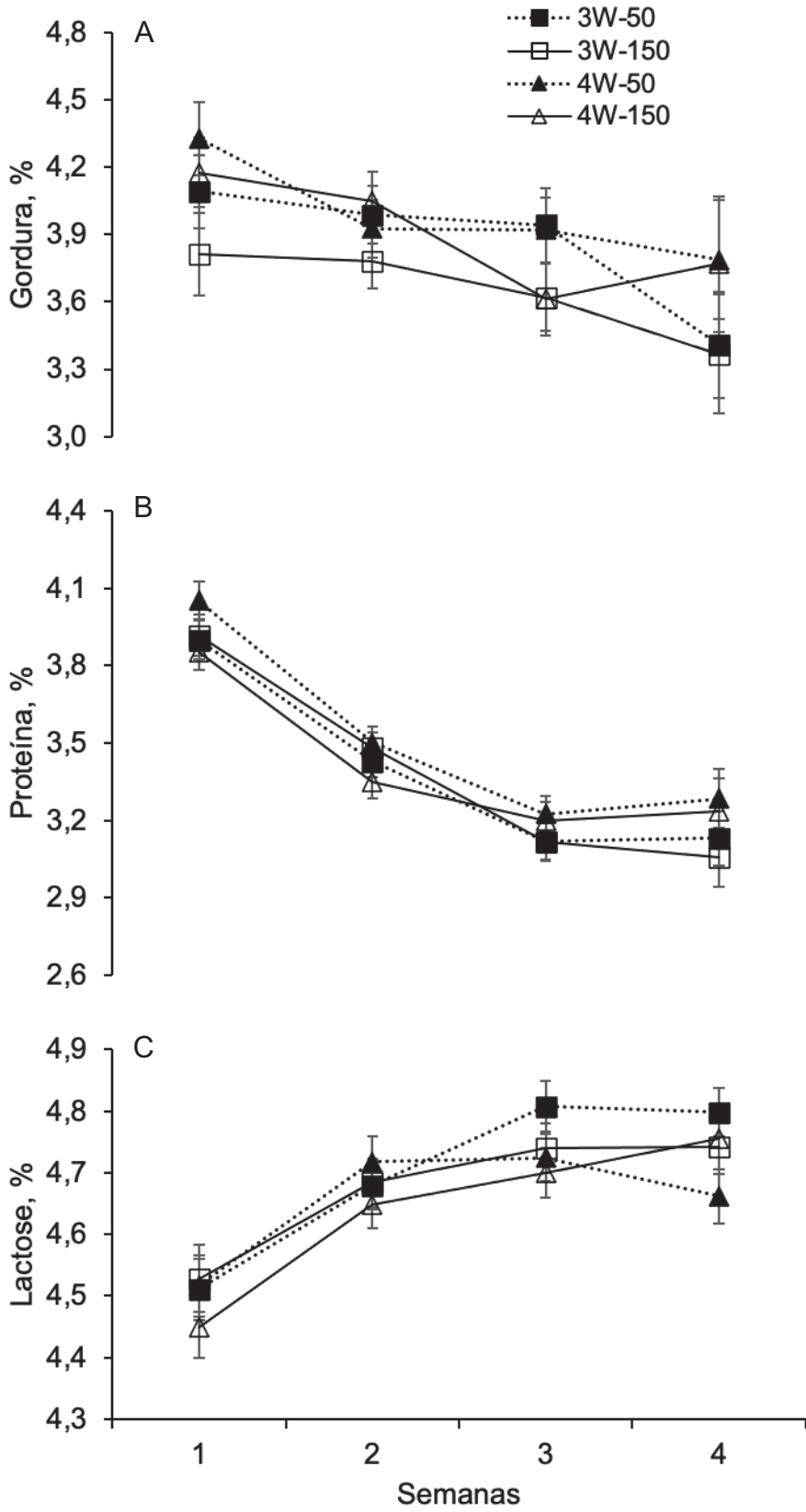


Figura 5. Concentrações de gordura (A), proteína (B) e lactose (C) do leite durante o pós-parto de vacas leiteiras alimentadas com dois níveis de DCAD negativa (-50 ou -150 mEq/kg de MS) e dois períodos de duração (3W ou 4W) da suplementação acidogênica no pré-parto. (A) interações entre duração, nível e semana ( $P = 0,82$ ); (B) interações entre duração, nível e semana ( $P = 0,56$ ); e (C) interações entre duração, nível e semana ( $P = 0,07$ ). As barras de erro representam o EPM.

Tabela 7. Efeitos da duração e do nível de DCAD da dieta acidogênica no pré-parto na concentração de metabólitos sanguíneos no dia -7 em relação ao parto esperado

Item	3W		4W		EPM	Duração	Nível	Duração x Nível
	-50	-150	-50	-150				
GGT <sup>1</sup> , U/L	30,27	30,31	29,78	31,16	1,02	0,88	0,52	0,56
AST <sup>1</sup> , U/L	84,90	83,81	82,54	80,92	3,16	0,43	0,68	0,93
TAG <sup>1</sup> , mg/dL	14,91	17,21	16,83	16,60	0,59	0,40	0,19	0,12
Colesterol <sup>1</sup> , mg/dL	67,47	71,60	71,14	69,22	1,61	0,78	0,63	0,19
Albumina <sup>1</sup> , g/dL	3,36	3,34	3,38	3,27	0,04	0,60	0,19	0,41
Globulina <sup>1</sup> , g/dL	3,58	3,71	3,57	3,55	0,09	0,49	0,66	0,54
Alb/Glob <sup>2</sup>	0,98	0,95	0,98	0,95	0,03	0,97	0,37	0,88
Bilirrubina <sup>1</sup> , g/dL	0,08	0,09	0,09	0,07	0,01	0,92	0,17	0,05
NEFA <sup>1</sup> , mM	0,08	0,13	0,12	0,13	0,02	0,61	0,65	0,27
Glicose <sup>1</sup> , mM	3,23	3,13	3,13	3,11	0,08	0,48	0,45	0,59

<sup>1</sup>Concentrações de metabólitos sanguíneos analisados do soro de amostras coletadas no dia -7 em relação à data prevista de parto.

<sup>2</sup>Relação albumina e globulina.

Tabela 8. Efeitos da duração e do nível de DCAD da dieta acidogênica no pré-parto na concentração de metabólitos sanguíneos no pós-parto e na calcemia

Item	3W			4W			Valor P			
	-50	-150		-50	-150		Duração	Nível	Duração x Nível	
GGT <sup>1</sup> , U/L	27,61	27,16		28,70	30,08		0,63	0,01	0,51	0,18
AST <sup>1</sup> , U/L	86,17	84,71		85,87	84,68		1,94	0,94	0,55	0,95
TAG <sup>1</sup> , mg/dL	7,78	8,46		8,20	8,53		0,14	0,23	0,01	0,36
Colesterol <sup>1</sup> , mg/dL	71,06	73,76		74,37	70,21		1,47	0,95	0,71	0,09
Albumina <sup>1</sup> , g/dL	3,26	3,22		3,32	3,16		0,03	0,98	0,02	0,12
Globulina <sup>1</sup> , g/dL	3,00	3,09		3,18	3,00		0,05	0,51	0,57	0,07
Alb/Glob <sup>2</sup>	1,13	1,07		1,09	1,07		0,02	0,60	0,24	0,55
Bilirrubina <sup>1</sup> , g/dL	0,14	0,16		0,15	0,15		0,01	0,48	0,38	0,23
Glicose <sup>1</sup> , mM	3,36	3,48		3,55	3,36		0,07	0,76	0,74	0,14
NEFA <sup>3</sup> , mM	0,33	0,33		0,34	0,36		0,02	0,45	0,92	0,50
Cálcio iônico <sup>4</sup> , mM	1,07	1,05		1,03	1,03		0,02	0,24	0,80	0,75
Cálcio total <sup>5</sup> , mM	1,89	1,91		1,91	1,93		0,01	0,44	0,30	0,94
Glicosímetro										
BHB, mM <sup>6</sup>	0,71	0,67		0,68	0,66		0,05	0,62	0,49	0,74
Glicose, mM <sup>6</sup>	2,55	2,60		2,58	2,76		0,04	0,09	0,05	0,25

<sup>1</sup>Concentrações de metabólitos sanguíneos analisados do soro de amostras coletadas nos dias 0, 3, 7 e 14 pós-parto.

<sup>2</sup>Relação albumina e globulina.

<sup>3</sup>Sangue coletado 0 e 7d pós-parto e soro analisado para concentrações de AGNE.

<sup>4</sup>Sangue coletado 1, 2, 3 e 4d pós-parto e sangue total analisado para concentração de cálcio iônico usando aparelho bioquímico portátil *i-STAT*.

<sup>5</sup>Sangue coletado 1, 2, 3 e 4d pós-parto e soro analisado para concentração de cálcio total.

<sup>6</sup>Sangue coletado 3, 7 e 14d pós-parto para análise das concentrações de BHB e glicose usando glicosímetro portátil.

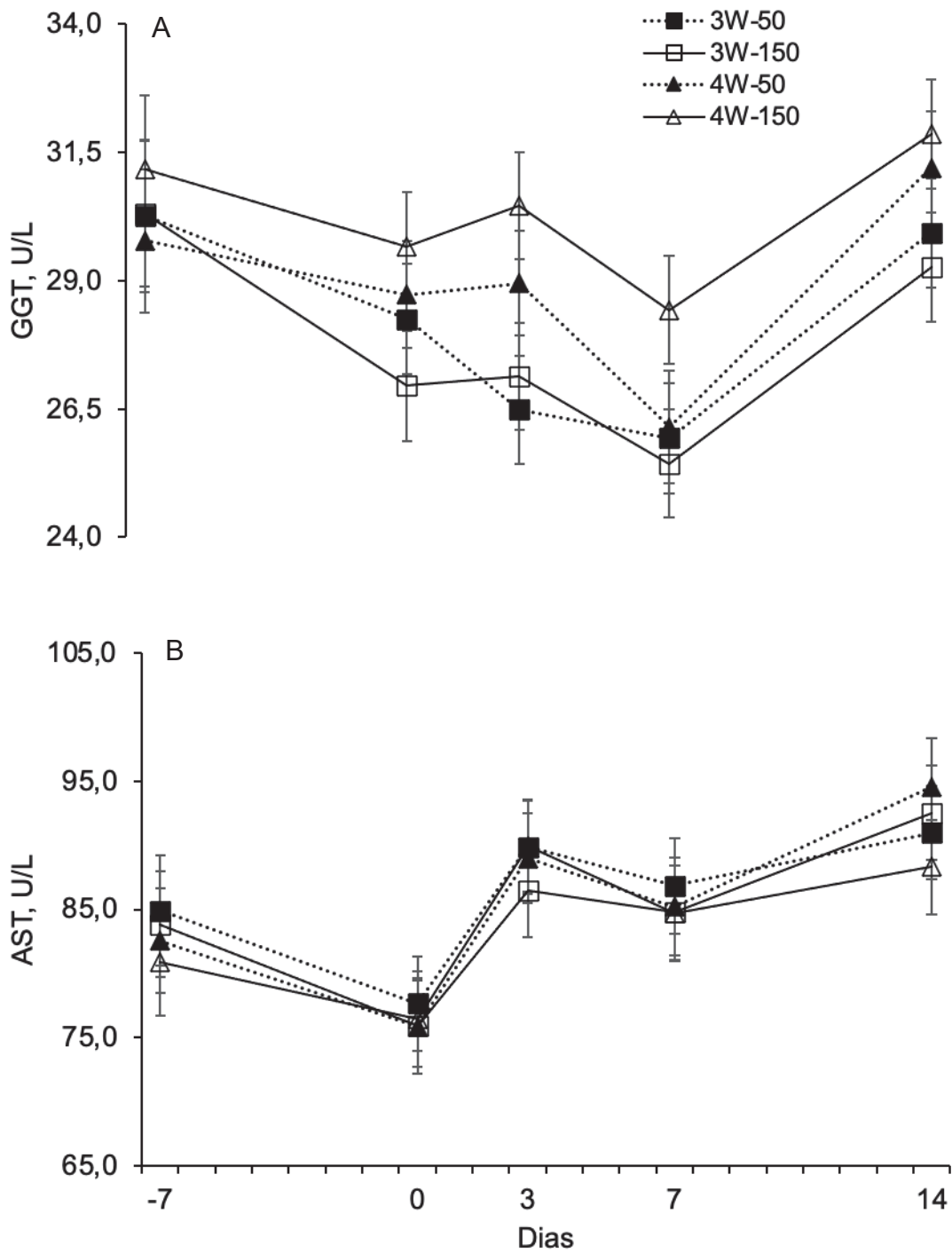


Figura 6. Concentrações das enzimas GGT (A) e AST (B) no soro de vacas leiteiras alimentadas com dois níveis de DCAD negativa (-50 ou -150 mEq/kg de MS) e dois períodos de duração (3W ou 4W) da suplementação acidogênica no pré-parto. (A) interações pré-parto entre duração e nível ( $P = 0,56$ ); interações pós-parto entre duração, nível e dia ( $P = 0,50$ ). (B) interações pré-parto entre duração e nível ( $P = 0,93$ ); interações pós-parto entre duração, nível e dia ( $P = 0,58$ ). As barras de erro representam o EPM.

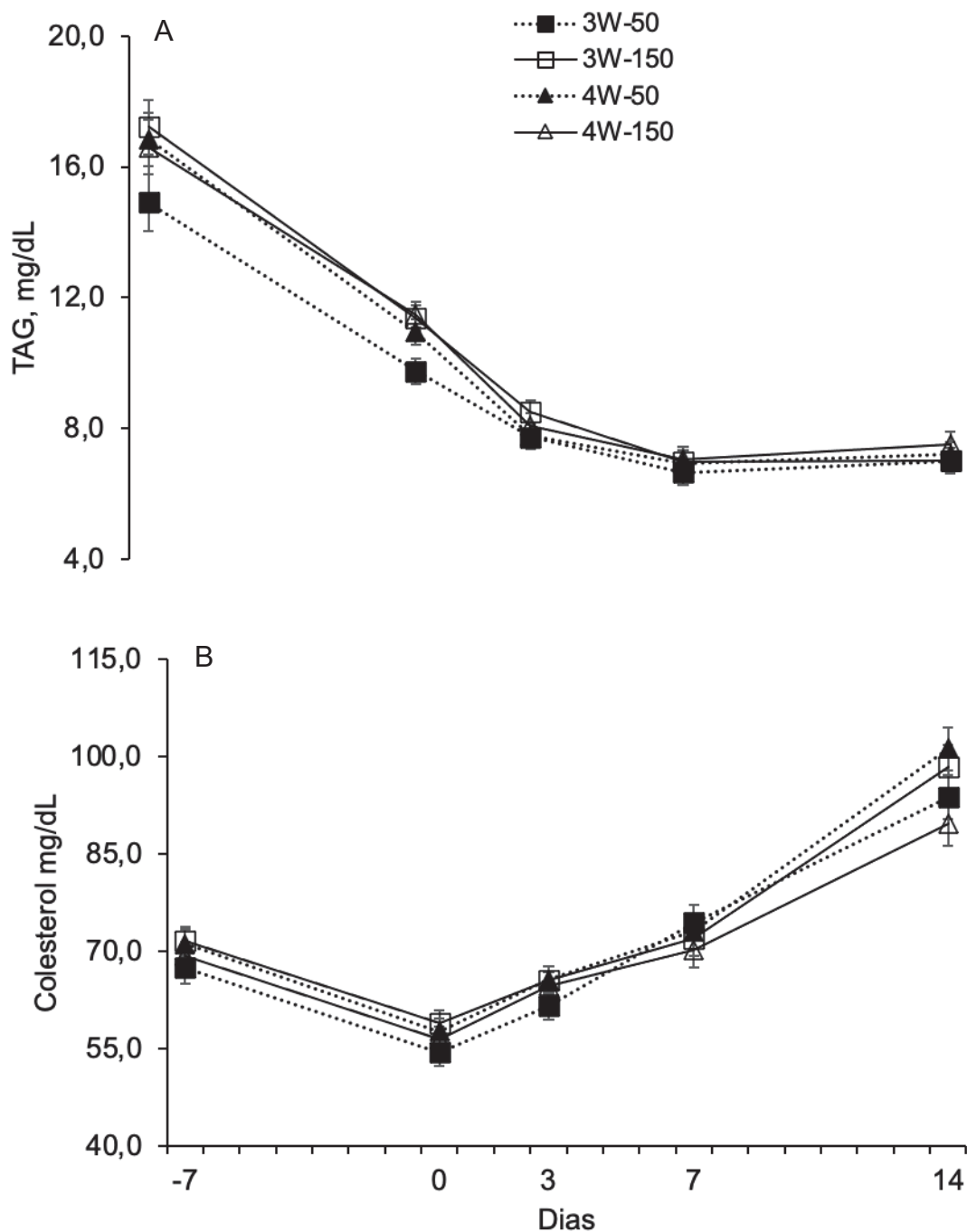


Figura 7. Concentrações de TAG (A) e colesterol (B) no soro de vacas leiteiras alimentadas com dois níveis de DCAD negativa (-50 ou -150 mEq/kg de MS) e dois períodos de duração (3W ou 4W) da suplementação acidogênica no pré-parto. (A) interações pré-parto entre duração e nível ( $P = 0,12$ ); interações pós-parto entre duração, nível e dia ( $P = 0,64$ ). (B) interações pré-parto entre duração e nível ( $P = 0,19$ ); interações pós-parto entre duração, nível e dia ( $P = 0,04$ ). As barras de erro representam o EPM.

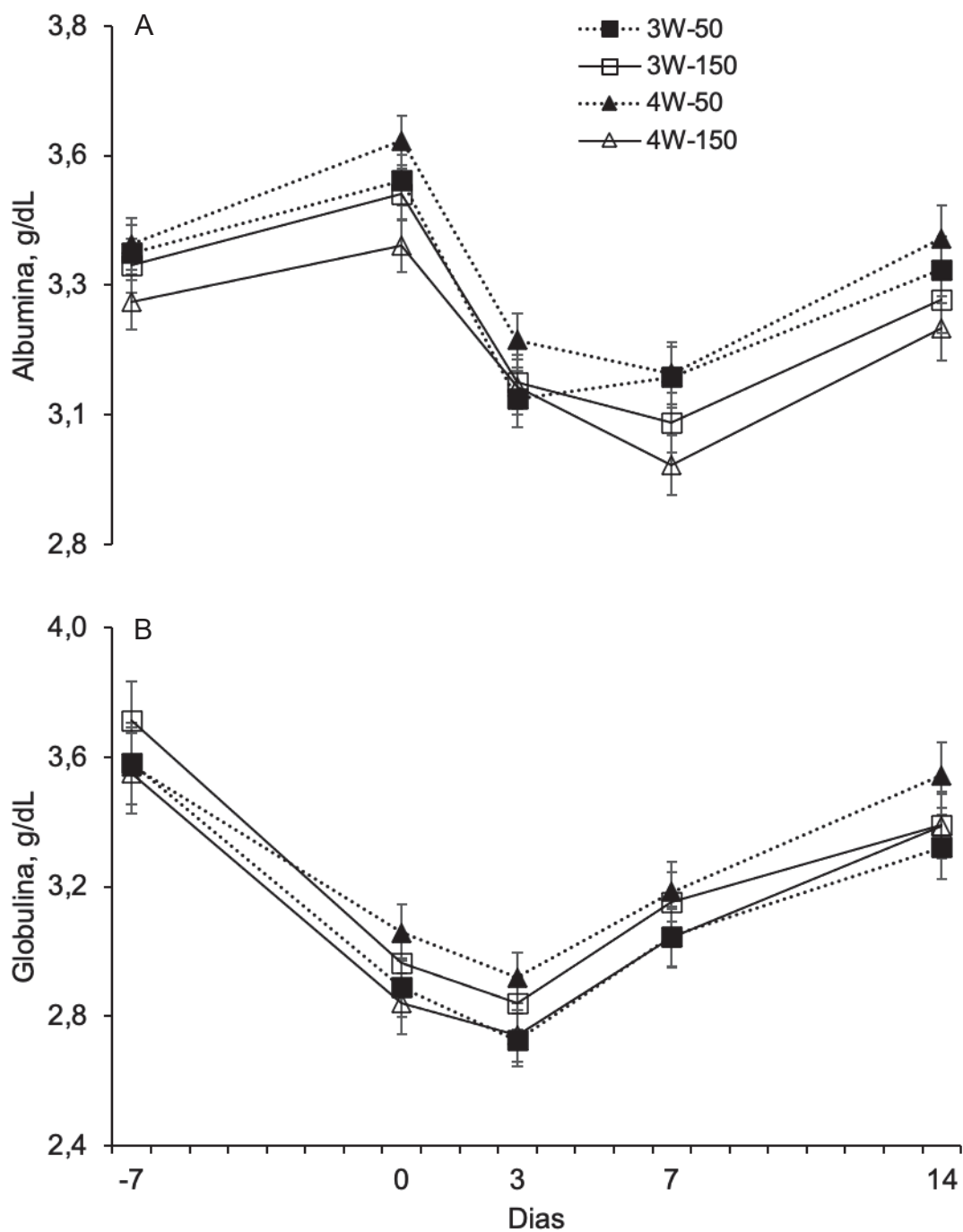


Figura 8. Concentrações de albumina (A) e globulina (B) no soro de vacas leiteiras alimentadas com dois níveis de DCAD negativa (-50 ou -150 mEq/kg de MS) e dois períodos de duração (3W ou 4W) da suplementação acidogênica no pré-parto. (A) interações pré-parto entre duração e nível ( $P = 0,41$ ); interações pós-parto entre duração, nível e dia ( $P = 0,91$ ). (B) interações pré-parto entre duração e nível ( $P = 0,54$ ); interações pós-parto entre duração, nível e dia ( $P = 0,99$ ). As barras de erro representam o EPM.

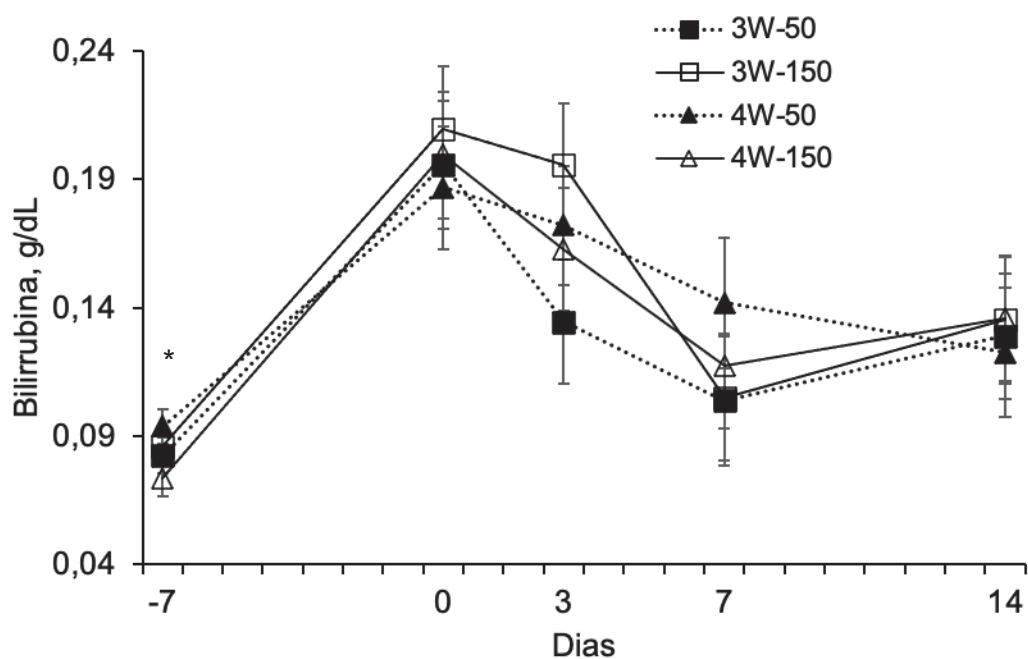


Figura 9. Concentrações de bilirrubina no soro de vacas leiteiras alimentadas com dois níveis de DCAD negativa (-50 ou -150 mEq/kg de MS) e dois períodos de duração (3W ou 4W) da suplementação acidogênica no pré-parto. Interações pré-parto entre duração e nível ( $P = 0.05$ ); interações pós-parto entre duração, nível e dia ( $P = 0.17$ ). As barras de erro representam o EPM.

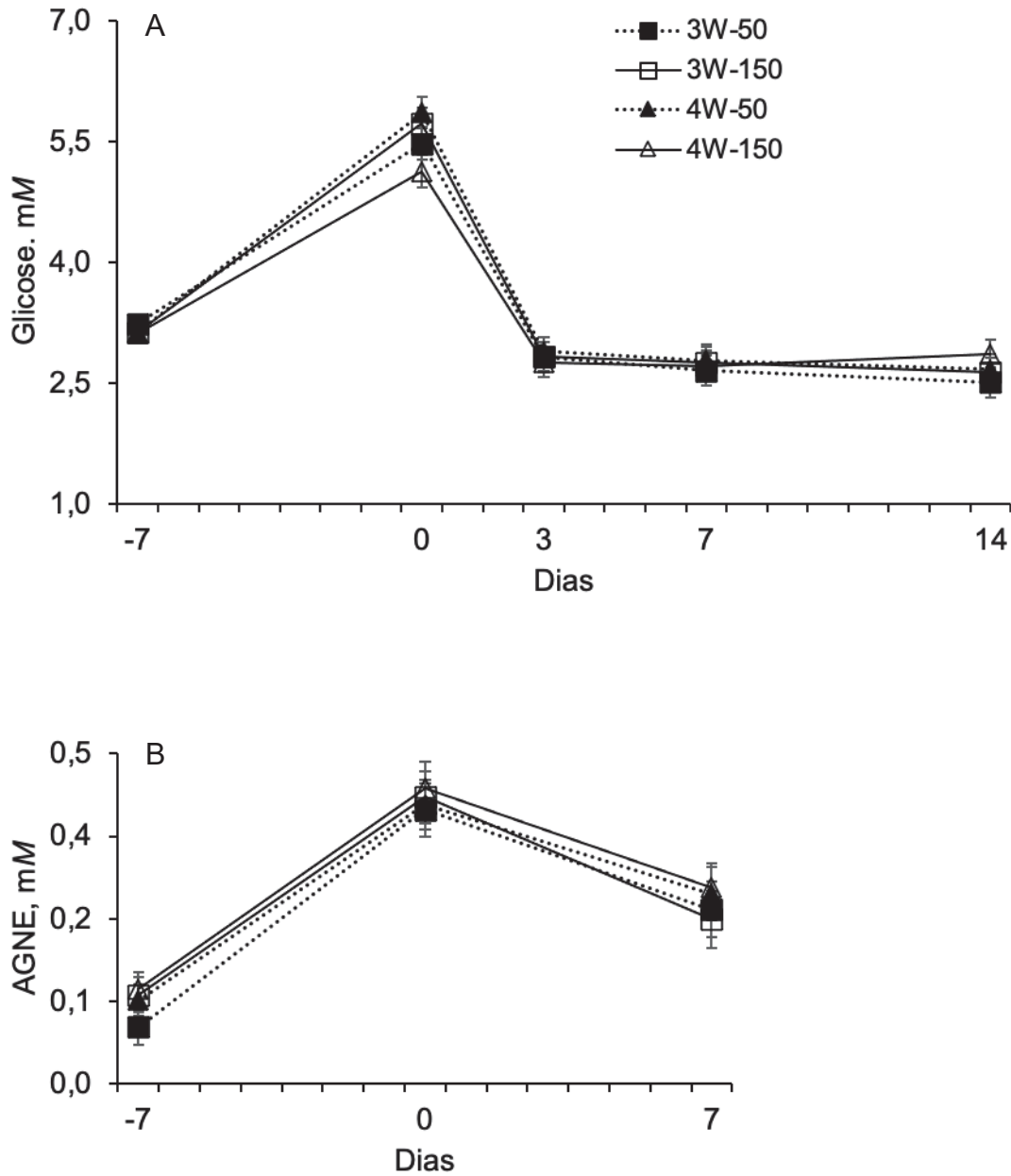


Figura 10. Concentrações de glicose (A) e AGNE (B) no soro de vacas leiteiras alimentadas com dois níveis de DCAD negativa (-50 ou -150 mEq/kg de MS) e dois períodos de duração (3W ou 4W) da suplementação acidogênica no pré-parto. (A) interações pré-parto entre duração e nível ( $P = 0,59$ ); interações pós-parto entre duração, nível e dia ( $P = 0,24$ ). (B) interações pré-parto entre duração e nível ( $P = 0,52$ ); interações pós-parto entre duração, nível e dia ( $P = 0,88$ ). As barras de erro representam o EPM.

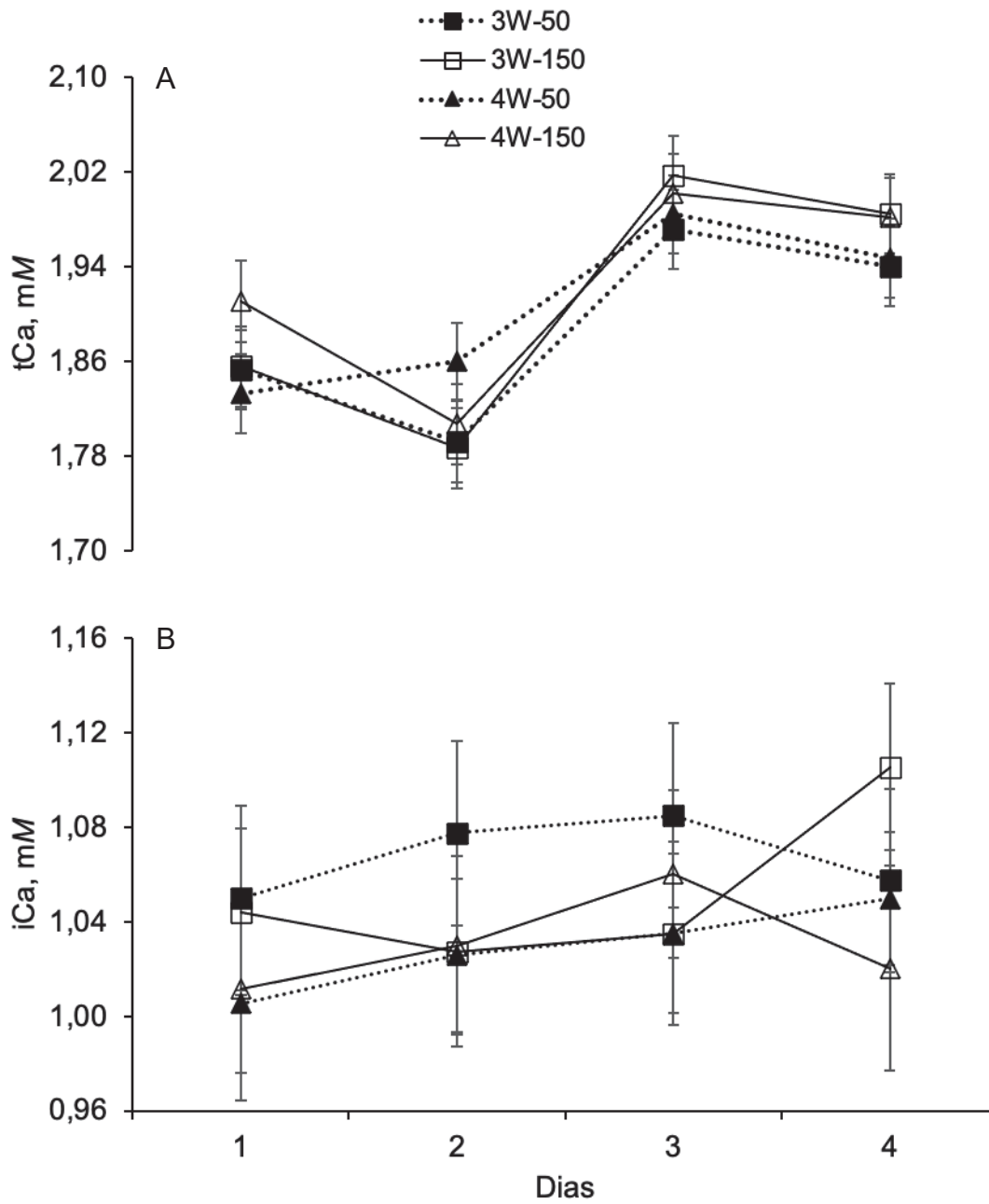


Figura 11. Concentrações de tCa (A) no soro e iCa (B) de vacas leiteiras alimentadas com dois níveis de DCAD negativa (-50 ou -150 mEq/kg de MS) e dois períodos de duração (3W ou 4W) da suplementação acidogênica no pré-parto. (A) interações entre duração, nível e dia ( $P = 0,51$ ). (B) interações entre duração, nível e dia ( $P = 0,31$ ). As barras de erro representam o EPM.

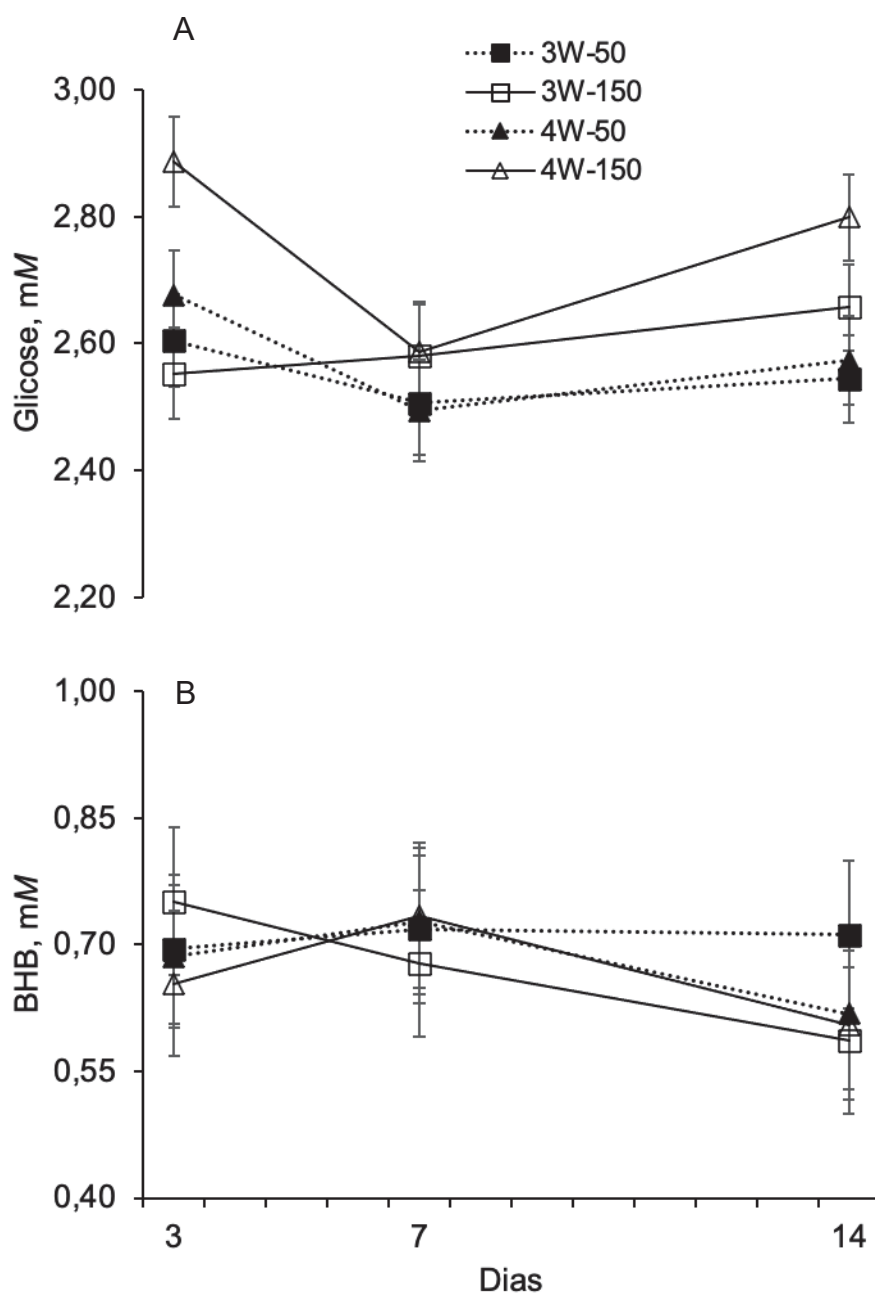


Figura 12. Concentrações de glicose (A) e BHB (B) medidos durante o pós-parto de vacas leiteiras alimentadas com dois níveis de DCAD negativa (-50 ou -150 mEq/kg de MS) e dois períodos de duração (3W ou 4W) da suplementação acidogênica no pré-parto. Mensuração realizada através de glicosímetro portátil e tiras reagentes. (A) interações entre duração, nível e dia ( $P = 0,35$ ). (B) interações entre duração, nível e dia ( $P = 0,25$ ). As barras de erro representam o EPM.

Tabela 9. Efeitos da duração e do nível de DCAD da dieta acidogênica no pré-parto na saúde e permanência no rebanho de vacas leiteiras

Item	Incidência %	3W			4W			Valor P		
		-50	-150	-50	-150	-50	EPM	Duração	Nível	Duração x Nível
Retenção de placenta	15,8 (28/177)	26,2	14,0	15,2	8,7	4,0	0,16	0,10	0,86	
Metrite puerperal	5,1 (9/175)	4,8	7,0	2,2	6,7	2,3	0,68	0,49	0,71	
Hiperetonemia <sup>1</sup>	20,6 (36/175)	23,8	16,3	22,2	20,0	4,5	0,84	0,41	0,67	
Deslocamento abomaso <sup>2</sup>	4,0 (7/175)	2,4	2,3	6,7	4,4	2,1	0,49	0,84	0,85	
Mastite <sup>2</sup>	10,9 (19/175)	2,4	9,3	20,0	11,1	3,3	0,30	0,67	0,35	
Morbidade <sup>2</sup>	38,4 (68/177)	40,5	32,6	45,7	34,8	5,4	0,63	0,19	0,85	
Múltiplas doenças <sup>2</sup>	13,7 (24/175)	14,3	9,3	17,8	13,3	3,7	0,60	0,53	0,90	
Morte <sup>2</sup>	7,3 (13/177)	4,8	4,7	13,0	6,5	2,9	0,25	0,50	0,55	
Descarte <sup>2</sup>	9,0 (16/177)	9,5	4,7	13,0	8,7	3,1	0,37	0,27	0,79	
Hipocalcemia <sup>3</sup>	77,1 (135/175)	81,0	76,7	84,4	66,7	4,8	0,78	0,09	0,30	
Normocalcêmica <sup>4</sup>	14,6 (23/158)	14,6	15,4	7,5	21,1	4,2	0,74	0,20	0,26	
HSCt <sup>5</sup>	28,5 (45/158)	29,3	38,5	22,5	23,4	5,1	0,38	0,63	0,71	
HSCp <sup>6</sup>	45,6 (72/158)	41,5	41,0	62,5	36,8	6,2	0,30	0,10	0,13	
HSCa <sup>7</sup>	11,4 (18/158)	14,6	5,1	7,5	18,4	3,6	0,65	0,93	0,30	

<sup>1</sup>Hiperetonemia foi considerada quando concentração de BHB no sangue total foi  $\geq 1,2$  mM no dia 3 e 7 pós-parto.

<sup>2</sup>Eventos considerados nos primeiros 60 DEL.

<sup>3</sup>Hipocalcemia subclínica foi considerada em pelo menos duas amostras com concentração de tCa no soro  $\leq 2,0$  mM no dia 1, 2, 3 e 4 pós-parto.

<sup>4</sup>Normocalcemia foi considerada quando concentração de tCa  $> 2,0$  mM no dia 1 e  $> 2,0$  mM no dia 4.

<sup>5</sup>Hipocalcemia subclínica transitória foi considerada quando concentração de tCa  $\leq 2,0$  mM no dia 1 e  $> 2,0$  mM no dia 4.

<sup>6</sup>Hipocalcemia subclínica persistente foi considerada quando concentração de tCa  $\leq 2,0$  mM no dia 1 e  $\leq 2,0$  mM no dia 4.

<sup>7</sup>Hipocalcemia subclínica atrasada foi considerada quando concentração de tCa  $> 2,0$  mM no dia 1 e  $\leq 2,0$  mM no dia 4.

