# UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL FACULDADE DE VETERINÁRIA

# PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

# FATORES QUE AFETAM A COMPOSIÇÃO DO LEITE BOVINO EM REBANHOS SOB CONTROLE LEITEIRO: ENFOQUE EPIDEMIOLÓGICO E METABÓLICO

**CARLOS BONDAN** 

PORTO ALEGRE

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE VETERINÁRIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

# FATORES QUE AFETAM A COMPOSIÇÃO DO LEITE BOVINO EM REBANHOS SOB CONTROLE LEITEIRO: ENFOQUE EPIDEMIOLÓGICO E METABÓLICO

Autor: Carlos Bondan, MV, MSc.

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências Veterinárias na área de Patologia Veterinária

**Orientador:** Félix H. Díaz González

PORTO ALEGRE

## CIP - Catalogação na Publicação

Bondan, Carlos
FATORES QUE AFETAM A COMPOSIÇÃO DO LEITE BOVINO
EM REBANHOS SOB CONTROLE LEITEIRO: ENFOQUE
EPIDEMIOLÓGICO E METABÓLICO / Carlos Bondan. -- 2015.
104 f.

Orientador: Félix H. Diaz González.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2015.

1. produção do leite. 2. qualidade do leite. 3. transtornos metabólicos. I. González, Félix H. Diaz, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

# **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a quatro pessoas que são inspiração e força para minhas conquistas:

A minha amada filha Júlia, pelo seu amor e carinho.

A minha inseparável esposa Cassiane, pelo amor, compreensão e dedicação com nossa família.

A minha mãe Ivoni, pelo apoio incondicional.

Ao meu irmão Cléo, pelo companheirismo e cumplicidade nas batalhas da vida.

Juntos somos mais fortes.

#### **AGRADECIMENTOS**

A minha família pelo apoio e compreensão naqueles momentos em que foi necessária minha ausência. Vocês foram e sempre serão a base necessária para as minhas conquistas. Junto de vocês as dificuldades se tornam menores, mesmo à distância, o apoio de vocês me torna mais fortalecido.

Ao meu orientador e amigo, Prof. Dr. Félix Hilário Díaz González, pela oportunidade e confiança depositada em mim. Conhecemo-nos pelo gosto de trabalhar e pesquisar os desafios da produção leiteira. A sua esposa Renildes pela acolhida e estadias quando me encontrava em Porto Alegre.

Ao grande amigo, colega de sala, Prof. MSc. Leonardo Porto Alves, nossas conversas, de todos os assuntos, foram motivos de descontração e reflexão. Dentre elas, surgiu a hipótese do doutoramento, hoje nós dois estamos nesta. Sorte para nós!

A Universidade de Passo Fundo pelo apoio e liberação para minha qualificação profissional. Sou grato ao Curso de Medicina Veterinária em nome da coordenadora Profa. Dra. Maria Isabel Botelho Vieira, à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV), em nome do diretor Prof. Dr. Hélio Carlos Rocha, à Vice-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação (VRPPG), em nome do colega Prof. Dr. Leonardo Gil Barcellos e à Reitoria da Universidade de Passo Fundo, em nome do Reitor Prof. MSc. José Carlos Carles de Souza.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

Ao Sr. André Van Riel, Granja Alvorada, ao Engenheiro Agrônomo Luciano Albrecht, Fazenda Pinhalzinho e a todos os funcionários destas fazendas que dedicaram parte do seu tempo para colaborar com o experimento a campo.

Ao amigo, colega e colaborador deste trabalho, MV. Esp. Daniel Lazzari Quadros.

À MV. Karine Martini Machado, aluna do Programa Residência Integrado em Medicina Veterinária, pelo apoio na condução do experimento a campo.

Em nome do aluno Eduardo Mühl, agradeço a todos os alunos voluntários que participaram do experimento a campo.

Ao Serviço de Análises de Rebanhos Leiteiros (SARLE) da Universidade de Passo Fundo, em nome dos colegas Silvio e Cassiana, quero agradeço a toda a equipe que esteve envolvida nas análises laboratoriais do leite.

Ao Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (LACVET – UFRGS), em nome da MV. Mariana Dreyer, pelas análises clínicas.

À grande amiga, Profa. Dra. Mirela Noro, pelo apoio estatístico e muito mais pelas nossas conversas e orientações que foram de grande valia para a construção deste trabalho.

Muito Obrigado!

# **EPÍGRAFE**

"O estudo dos fenômenos das moléstias sem o auxílio de livros é como navegar num mar desconhecido, enquanto que o estudo dos livros sem o paciente é não estar absolutamente no mar".

Sir William Osler

viii

FATORES QUE AFETAM A COMPOSIÇÃO DO LEITE BOVINO EM REBANHOS SOB CONTROLE LEITEIRO: ENFOQUE EPIDEMIOLÓGICO E

**METABÓLICO** 

Autor: Carlos Bondan

Orientador: Félix Hilario Díaz González

**RESUMO** 

O Rio Grande de Sul é o estado brasileiro que tem apresentado o maior crescimento na

produtividade leiteira do país. Este aumento pode, em parte, ser explicado pelas

oportunidades que a produção de leite tem proporcionado em aumentar a renda por

hectare melhorando as condições socioeconômicas dos envolvidos na atividade. Porém,

a produção ainda se mantém aquém do esperado para o potencial genético do seu

rebanho em termos de produtividade e qualidade. O presente trabalho tem como

objetivo estudar fatores ambientais e metabólicos que podem estar afetando a

quantidade e a qualidade do leite, mediante um estudo retrospectivo que utiliza o banco

de dados do controle leiteiro do SARLE-UPF, e um estudo metabólico prospectivo com

vacas pertencentes a rebanhos do Planalto Médio do Rio Grande do Sul. No primeiro

estudo foram analisados 115 rebanhos que totalizaram 187.796 informações individuais

de vacas da raça Holandesa em um período de seis anos (2008-2013), onde se avaliou as

influências que as estações do ano, dias em lactação e número de partos acarretaram na

composição e produção de leite, enquanto o segundo estudo foram analisadas 119 vacas

da raça Holandesa durante o período de transição onde se avaliou os transtornos clínicos

e subclínicos e seus efeitos sobre a produção e a composição do leite. O estudo

retrospectivo apresenta o efeito da sazonalidade, onde no inverno obtiveram-se as

maiores produções de leite e de sólidos totais. Vacas no início da lactação (6 a 60 DEL)

ix

e aquelas com dois e três partos foram as mais produtivas. O maior desafio a ser

vencido é a diminuição da contagem de células somáticas que se correlacionaram

negativamente com a produção e o percentual de lactose. No estudo prospectivo foram

encontrados 26,9% de transtornos clínicos e 53,8% de transtornos subclínicos, sendo a

hipocalcemia subclínica aquela com maior ocorrência. A produção de leite foi afetada

por alguns transtornos clínicos e subclínicos e esteve associada com balanço energético

negativo. A gordura láctea e o cociente G:P apresentaram-se aumentadas

concomitantemente quando ocorreu aumento dos AGNE, BHB e perda acentuada de

ECC.

Palavras-chave: produção do leite, qualidade do leite, ambiente, transtornos

metabólicos

Х

FACTORS AFFECTING MILK COMPOSITION IN COW HERDS UNDER

MILK RECORDING: AN EPIDEMIOLOGICAL AND METABOLIC

**APPROACH** 

Author: Carlos Bondan

Advisor: Félix Hilario Díaz González

**ABSTRACT** 

Rio Grande de Sul is the Brazilian state with the largest increase in milk yield. This

increase may be partly explained by the opportunities that dairy production has opened

up for raises in income per hectare, thus improving dairy farmers' socioeconomic

conditions. However, milk yield is below expectations for the dairy herd's genetic

potential as far as productivity and quality are concerned. The aim of the present thesis

is to investigate environmental and metabolic factors that may affect the quantity and

quality of milk. A retrospective study based on the milk recording data obtained by the

Division of Dairy Herd Analyses of Universidade de Passo Fundo (SARLE-UPF) and a

metabolic prospective study in cows from the Plateau Region of Rio Grande do Sul

were conducted. The first study assessed 115 herds, totaling 187,796 individual data on

Holstein cows within a six-year period (2008-2013), analyzing the effects of seasons of

the year, days in milk, and parity on milk composition and yield. The second study

included 119 Holstein cows during the transition period, and assessed clinical and

subclinical disorders and their effects on milk yield and composition. The retrospective

study demonstrated the effect of seasonality, revealing that the largest productions of

milk and total solids occurred in winter. Cows in early lactation (6 to 60 DIM) and those

in second and third lactations were the most productive ones. The biggest challenge to

be overcome rests with the reduction of somatic cell count, which is negatively

χi

correlated with yield and with lactose concentration. The prospective study detected

26.9% of clinical disorders and 53.8% of subclinical disorders, among which the highest

incidence was that of subclinical hypocalcemia. Milk yield was affected by some

clinical and subclinical disorders and was associated with a negative energy balance.

Milk fat and the F:P ratio increased concomitantly when high levels of NEFA and BHB

and remarkable loss of BCS were observed.

**Keywords:** milk yield, milk quality, environment, metabolic disorders.

## LISTA DE TABELAS

## **ARTIGO 1**

TABLE 1.	Mean (± standard deviation), median, and percentiles of milk yield, chemical composition, somatic cell score (SCS) and fat to protein (F:P) ratio of Holstein cows from southern Brazil (N= 148,604).	63
TABLE 2.	Annual means (± standard deviation) of milk yield, chemical composition, SCS, and F:P ratio between January 2008 and December 2013 in dairy herds from southern Brazil.	64
TABLE 3.	Means (± standard deviation) of milk yield, chemical composition, SCS, and F:P ratio in different seasons of the year in dairy herds from southern Brazil.	65
TABLE 4.	Means (± standard deviation) of milk yield, chemical composition, SCS, and F:P at different stages of lactation in dairy herds from southern Brazil	66
TABLE 5.	Means (± standard deviation) of milk yield, chemical composition, SCS, and F:P ratio, according to lactation number in dairy herds from southern Brazil	67
TABLE 6.	Correlations between days in milk (DIM), parity, milk yield, and milk composition in dairy herds from southern Brazil	68

## **ARTIGO 2**

TABELA 1. Número e percentual de vacas com manifestação de transtornos clínicos, subclínicos e sem transtornos metabólicos de acordo ao número de partos (primíparas e multíparas) no período de 6 a 62 dias

	em leite, em duas fazendas leiteiras do Rio Grande do Sul (Brasil)	83
TABELA 2.	Média e desvio padrão (L/vaca/dia) de produção de leite, em vacas com manifestação de transtornos clínicos, subclínicos e sem transtornos metabólicos, nos períodos de 6 a 21, 22 a 42 e 43 a 62 dias em lactação, em duas fazendas leiteiras do Rio Grande do Sul (Brasil)	84
TABELA 3.	Média e desvio padrão do percentual de gordura no leite de vacas com manifestação de transtornos clínicos, subclínicos e sem transtornos metabólicos, nos períodos de 6 a 21, 22 a 42 e 43 a 62 dias em lactação, em duas fazendas leiteiras do Rio Grande do Sul (Brasil)	85
TABELA 4.	Média e desvio padrão do percentual de proteína no leite de vacas com manifestação de transtornos clínicos, subclínicos e sem transtornos metabólicos, nos períodos de 6 a 21, 22 a 42 e 43 a 62 dias em lactação, em duas fazendas leiteiras do Rio Grande do Sul (Brasil)	86
TABELA 5.	Média e desvio padrão do cociente entre gordura e proteína (G:P) no leite de vacas com manifestação de transtornos clínicos, subclínicos e sem transtornos metabólicos, nos períodos de 6 a 21, 22 a 42 e 43 a 62 dias em lactação, em duas fazendas leiteiras do Rio Grande do Sul (Brasil)	87
TABELA 6.	Concentrações médias e desvio padrão de ácidos graxos não esterificados (AGNE) no período de -15 a 62 dias em lactação, em vacas leiteiras com ou sem transtornos clínicos e subclínicos, em duas fazendas leiteiras do Rio Grande do Sul (Brasil)	88
TABELA 7.	Concentrações médias e desvio padrão de beta-hidroxibutirato (BHB) no período de -15 a 62 dias em lactação, em vacas leiteiras com ou	

	sem transtornos clínicos e subclínicos, em duas fazendas leiteiras do	
	Rio Grande do Sul (Brasil)	89
TABELA 8.	Concentrações médias e desvio padrão de cálcio sérico no período de	
	-15 a 62 dias em lactação, em vacas leiteiras com ou sem transtornos	
	clínicos e subclínicos, em duas fazendas leiteiras do Rio Grande do	
	Sul (Brasil)	90
TABELA 9.	Concentrações médias e desvio padrão da atividade de AST sérico no	
	período de -15 a 62 dias em lactação, em vacas leiteiras com ou sem	
	transtornos clínicos e subclínicos, em duas fazendas leiteiras do Rio	
	Grande do Sul (Brasil)	91
TABELA 10.	Média e desvio padrão do escore de condição corporal no período de	
	-15 a 62 dias em vacas leiteiras com ou sem transtornos clínicos e	0.0
	subclínicos, em duas fazendas leiteiras do Rio Grande do Sul (Brasil).	92

# SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	18
	2.1 Objetivos gerais	18
	2.2 Objetivos específicos	18
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
	3.1 O setor leiteiro	19
	3.2 Qualidade do leite	22
	3.3 Composição do leite	25
	3.3.1 Sólidos não gordurosos	25
	3.3.2 Proteína	26
	3.3.3 Lactose	29
	3.3.4 Gordura	30
	3.3.5 Contagem de células somáticas	35
	3.4 Controle leiteiro	37
	3.5 Desequilíbrios metabólicos	39
	3.5.1 Indicadores sanguíneos dos transtornos metabólicos	41
	3.5.2 Indicadores do perfil energético	42
	3.5.3 Indicadores do perfil protéico	44
	3.5.4 Indicadores do perfil mineral	46
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
	<b>4.1 Artigo 1.</b> Variation in milk yield and composition of Holstein cows in	
	southern Brazil: a retrospective study	50
	<b>4.2 Artigo 2.</b> Ocorrência de transtornos clínicos e subclínicos no período	
	de transição em vacas leiteiras de alta produção: efeitos sobre a produção e	
	a composição do leite	69
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	93
6	•	04

## 1. INTRODUÇÃO

O leite historicamente participa na dieta dos humanos pela adaptabilidade dos mamíferos ordenhados em conviver e suportar ambientes com extremos de frio e/ou calor num convívio de trocas mutuas. Floss (2013) atribui aos humanos a qualidade de "mamíferos que não desmamam", o que pode estar relacionado com o discernimento que os mais primitivos possuíam em escolher o quê consumir e consumir o que havia de melhor e pela aproximação com os animais. Com a evolução da ciência e as descobertas das qualidades nutricionais do leite, seu consumo foi entendido de forma mais racional, sendo a sua riqueza constitucional um atributo que permite atender à demanda nutricional durante todas as fases do desenvolvimento da vida humana.

O consumo lácteo andou junto com o progresso da humanidade e foi responsável pelo surgimento de toda uma cadeia econômica. No início uma troca de benefício, onde a vaca (espécie mais utilizada devido ao volume de leite produzido) ofertava leite em troca de cuidados, hoje, um complexo modelo de exploração animal onde a vaca responde aos tratamentos que recebe em produção, que por vezes, leva este mamífero a desenvolver doenças pelos excessos a que é submetido.

A demanda por alimentos seguros, produzidos de forma sustentável e respeitando o bem-estar dos animais é anseio da sociedade que produz e consomem lácteos. O ponto em comum entre segurança alimentar, produção sustentável e bem-estar animal é a viabilidade econômica. O produtor precisa produzir a baixos custos, respeitar os limites dos animais e obter remuneração satisfatória pelo seu trabalho já o consumidor almeja alimentos seguros e com preços acessíveis.

Em um mundo globalizado, a receita do produtor e o preço pago pelo consumidor dependem de rígidos controles de oferta e procura que também são influenciados pelas crescentes adversidades climáticas, custos da utilização da terra, água, mão de obra, respeito ao meio ambiente e ao bem-estar dos animais e ao contínuo aumento dos preços da energia e dos grãos. Os humanos, procurando melhorias na qualidade de vida, adaptam-se às exigências impostas pela sociedade, sejam elas exigências racionais ou meramente competitivas, extrapolando o bom senso e a razão.

Seja pela razão ou a competição, a produção e o consumo mundial de leite têm apresentado crescimento constante: de 2000 a 2012 o aumentou foi de 2,7% ao ano. Em 2012 o mundo produziu em torno de 737,1 milhões de toneladas. Os maiores produtores foram a União Europeia, representando 26% da produção, seguida pela Índia com 24% e os Estados Unidos da América com 17% (FAO, 2014). O Brasil, entre 2008 e 2012, cresceu 4,6% ao ano. Em 2014, o Brasil produziu aproximadamente 34,7 milhões de toneladas. O consumo *per capita* está na ordem de 175,4 L/ano (IBGE, 2014). Segundo estimativas do IBGE (2015), a população brasileira em junho de 2014 atingiu 202,7 milhões de habitantes e para atender a demanda de consumo *per capita*, será necessário produzir 35,5 milhões de toneladas, revelando um déficit de um milhão de toneladas. Com o aumento do consumo e a mudança de hábitos alimentares de povos sem tradição de consumo, como no continente asiático, estima-se que a demanda de leite brasileiro para os próximos 10 anos cresça 3,2% ao ano, chegando a 46 milhões de toneladas em 2023 (IBGE, 2014).

Diante de um cenário favorável que se estende desde 2000 e com perspectivas animadoras para a próxima década, a cadeia láctea tem estado fortalecida e se mantém sólida. O Brasil, como produtor de leite, possui desafios a serem vencidos, entre eles a baixa produtividade vaca/ano e a composição química, celular e microbiológica. Em um contexto nacional, alguns estados despontam na produção e produtividade, porém a qualidade não difere entre os estados. Minas Gerais é o maior produtor seguido pelo Rio Grande do Sul (IBGE, 2013), mas o Rio Grande do Sul é o estado com maior produtividade.

Entre as melhorias na qualidade é necessário aumentar os sólidos totais e diminuir a contagem de células somáticas e a contagem bacteriana total, que são responsáveis por diminuir o rendimento industrial, reduzir o tempo de validade e alterar negativamente as características organolépticas do leite que comprometem o mercado interno e a competição brasileira num cenário exportador. Qualidade e preço se conseguem com

gerência sobre os meios de produção, portanto é necessário produzir de forma competitiva, com qualidade e a baixos custos.

NORO et al. (2004) estudaram os fatores ambientais que afetam a produção e composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul, as quais utilizavam recursos da informação para obter respostas necessárias às decisões de manejo nas propriedades. Os resultados obtidos indicaram que a utilização de ferramentas de gestão interferiu positivamente na produção e qualidade do leite quando comparado com as médias estaduais e brasileiras.

DÜRR et al. (2011) afirmam que a produção brasileira de leite carece de profissionalização e a solução pode estar na criação de uma estrutura com banco de dados e assistência técnica nos moldes adotados em países com pecuária leiteira desenvolvida. As informações do desempenho zootécnico são essenciais para o manejo racional dos rebanhos, para os programas de avaliação genética do gado leiteiro, para os programas de rastreabilidade de animais e produtos lácteos e para o planejamento estratégico da cadeia láctea como um todo.

Apesar da existência de ferramentas para gestão da produção láctea, estas são pouco utilizadas no Brasil. No Rio Grande do Sul existem duas instituições que oferecem softwares de gestão, a Associação de Criadores de Gado Holandês do RS (Gadolando) e o Serviço de Análises de Rebanhos Leiteiros da Universidade de Passo Fundo (SARLE-UPF), porém há pouca procura por parte de produtores e profissionais que atuam na assistência técnica em utilizar estes meios gerencias e não há ligações técnicocientíficas entre as duas instituições que permitam pesquisar as informações de produção e qualidade, num cenário regional e/ou nacional para revelar alternativas de melhorias na produção e qualidade.

A produção leiteira no Brasil apresenta diferenças tão grandes quanto a sua dimensão continental. A diversidade de solos, regimes pluviométricos, temperaturas, horas-luz, e a cultura da população, são fatores individuais ou associados que influenciam o desenvolvimento da atividade leiteira. O RS apresenta a maior produtividade vaca/ano do país e as regiões Norte e Nordeste do estado, possuem as bacias leiteiras mais desenvolvidas e produtivas (MONTOYA et al., 2014). O avanço da bacia leiteira gaúcha pode ser atribuído a fatores ambientais, culturais e interesses das indústrias de laticínio pela região. Na última década houve migração de grandes laticínios para o Rio

Grande do Sul assim como o fortalecimento de cooperativas e iniciativa privada estabelecidas no estado, fato que contribuiu para o aumento da competitividade e para a manutenção de preços atraentes que estimularam investimentos no setor produtivo.

O momento é favorável, mas é necessário perseguir insistentemente a excelência pela qualidade e a saúde econômica do setor. O presente trabalho pretende identificar fatores ambientais e metabólicos que possam colaborar na melhoria da produção e qualidade do leite, servindo como indicadores para a adoção de medidas alternativas que contribuam para o progresso sustentável da atividade.

#### 2. OBJETIVOS

#### 2.1 OBJETIVOS GERAIS

- Analisar as influências que interferem na produção e na qualidade do leite em rebanhos da principal bacia leiteira do Rio Grande do Sul, com base em registros existentes no sistema de controle leiteiro.
- Identificar transtornos clínicos e subclínicos em vacas durante o início da lactação mediante indicadores sanguíneos estratégicos.
- 3. Relacionando a condição metabólica com a produção e componentes químicos leite.

#### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar o comportamento da produção e da qualidade do leite de rebanhos sob controle leiteiro, a partir das diferenças que possam ocorrer entre os anos, entre as estações do ano, entre os estágios da lactação e entre o número de partos de vacas de raça Holandesa no Rio Grande do Sul.
- 2. Identificar situações clínicas de retenção de placenta, deslocamento de abomaso, mastite, metrite e cetose e situações subclínicas de balanço energético negativo, cetose e hipocalcemia em vacas leiteiras da raça Holandesa no período de transição, mediante exame clínico e indicadores bioquímicos sanguíneos específicos.

3. Analisar a produção e composição química e celular do leite em situações de eventos clínicos e subclínicos no período de transição pós-parto.

#### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 O setor leiteiro

A criação de bovinos no Rio Grande do Sul iniciou antes mesmo de ser território brasileiro e foi devido à importância econômica que a carne e o couro representavam para a economia no século XIX, quando longas e sangrentas batalhas foram travadas em busca de melhores recursos sociais (DORNELLES, 2010). Paralelamente aos interesses pela carne e o couro, ocorreu a exploração leiteira como recurso de subsistência. Os açorianos iniciaram a atividade no RS e posteriormente alemães, italianos, poloneses e holandeses, ocupando as terras mais ao norte e da região serrana do estado, impulsionando a produção leiteira pelas suas tradições culturais.

A evolução da cadeia láctea ocorreu ao longo do tempo a passos lentos, regulada pela oferta e procura do mercado interno e dependente do crescimento populacional e do consumo. Foi na década de 1990 que a desregulamentação do mercado leiteiro, a estabilidade econômica em decorrência do plano real e a abertura do comércio internacional de lácteos permitiu o avanço na produção e na produtividade dos rebanhos leiteiros no estado (MONTOYA et al., 2014).

NETO & BASSO (2005) atribuem à atividade leiteira a capacidade de construção de uma sociedade economicamente mais produtiva, socialmente mais justa e territorialmente mais equilibrada pela capacidade de provocar efeitos diretos, indiretos e induzidos sobre a economia de uma região. Os efeitos diretos correspondem à renda gerada pelo processo produtivo aos trabalhadores diretamente envolvidos, proprietários de terras, bancos e impostos. Os efeitos indiretos referem-se ao valor agregado nos vários segmentos da cadeia produtiva como os insumos, equipamentos, transformação e comercialização. O efeito induzido corresponde à circulação monetária na aquisição de bens e serviços, responsável pelo desenvolvimento social e econômico de uma região.

A atividade pecuária responde atualmente por 40% do total do valor bruto da

exploração agropecuária mundial e as perspectivas são de crescimento. Atualmente a evolução da atividade dependente da preocupação com a qualidade nutricional e funcional do leite na saúde humana, além da preocupação social com os recursos naturais e com o bem-estar animal. Os países desenvolvidos adotaram estratégias para diminuir o impacto ambiental sem perder em produção e produtividade e o caminho foi de investimentos para melhorar a produtividade, fato que levou à estabilidade do número de vacas ordenhadas e ao aumento na produção de leite. A qualidade foi perseguida através da rastreabilidade do leite da ordenha até o varejo com utilização de ferramentas da informação denominadas de "controle leiteiro", amplamente difundido e utilizado em países como Estados Unidos, Canadá e a União Europeia. Na América Latina atualmente o aumento da produção é decorrente do aumento do número de vacas ordenhadas. Para aumentar a produtividade sem aumentar o rebanho é necessário seguir as experiências de sucesso de outros países que organizaram o mercado lácteo e integraram os diferentes elos da cadeia leiteira (MONARDES, 2008).

O Planalto Médio do Estado do Rio Grande do Sul se tornou a região com a maior produção e produtividade do estado, beneficiada pelo novo contexto econômico delineado pela abertura de mercado e a estabilização da economia nacional, bem como as projeções para o setor lácteo estimulado pelas instalações de importantes indústrias na região, o que impulsionou cada vez mais o agronegócio do leite, trazendo competitividade e, acima de tudo, desenvolvimento para outros setores (FINAMORE et al., 2008). A cultura da população, a produção baseada em pequenas propriedades, o conhecimento na aplicação de modernas tecnologias, tanto na agricultura como na pecuária, as condições de clima e solo, o modelo de exploração agrícola que permite integração entre a lavoura e pecuária na busca pela maior remuneração do capital (a terra) e a proximidade com universidades, e centros de pesquisa e de extensão rural, também influenciaram o progresso do setor (KRUG, 2001).

O clima favorável possibilita um calendário forrageiro que disponibiliza alimentos volumosos ao gado leiteiro ao longo do ano (FONTANELI, 2000). Destacase ainda, a prática do plantio direto na região, o que proporciona um excedente de alimentos com alta qualidade, tendo em vista a necessidade de manutenção de cobertura verde no solo, integrando cada vez mais o sistema "lavoura-pecuária" (BALBINOT, 2009).

Os resultados de produção e produtividade, na região do Planalto Médio do Rio Grande do Sul superam os nacionais, estaduais e até mesmo os de países vizinhos como Uruguai e Argentina e tradicionais exportadores de leite no mundo com Nova Zelândia e Austrália (MONTOYA et al., 2014).

O Rio Grande do Sul se tornou o segundo maior produtor de leite do Brasil, depois de Minas Gerais, com produção anual superior a 4,0 bilhões de litros o que representa 12% da produção nacional. O estado também se destaca por possuir a melhor média de produção/vaca/ano, com 2.630 litros. Em média, a produção de leite no estado cresceu 82,2% entre 2001 e 2012, o número de vacas ordenhas cresceu 25,9% e a produtividade aumentou 44,7% (MONTOYA et al., 2014). Porém, quando se compara a média de produção das vacas gaúchas com a média de produção das vacas de outros países que tradicionalmente competem com o leite brasileiro em uma economia globalizada, percebe-se que é necessário investir mais nos fatores que possam melhorar os índices de produtividade.

O potencial produtivo das vacas da raça Holandesa, principal raça explorada no RS, é superior a 11.000 L/vaca/ano. Vacas desta raça em outros países podem chegar a médias de produção de 11.708 L/vaca/ano (Arábia Saudita em 2009). Os Estados Unidos, país maior produtor de leite no mundo, têm rebanhos de raça Holandesa que produziram 9.332 L/vaca/ano (EMBRAPA, 2009). Estima-se que o potencial genético do rebanho bovino leiteiro do estado do Rio Grande do Sul possa suportar uma produtividade média de 5.000 L/vaca/ano, isto é, ao menos dobrar a produção atual sem aumentar o número de vacas ordenhadas.

A produtividade dos rebanhos depende diretamente das características raciais, da sanidade das vacas, dos alimentos fornecidos, ou seja, da tecnificação e do manejo adotado pelos produtores. Neste contexto, as propriedades leiteiras podem ser classificadas em sistemas de produção extensivos e intensivos (KRUG, 2001). Sistema de produção extensivo consiste em manter os animais a campo, situação que não requer grandes conhecimentos da atividade ou profissionalismo dos fazendeiros. O sistema de produção intensivo consiste na utilização de raças leiteiras especializadas, controle sanitário, dietas balanceadas, instalações adequadas e uso intenso de mão de obra. O sistema intensivo, por sua vez, pode ser classificado como intensivo a pasto, intensivo semiconfinado e intensivo confinado (HOLMANN, 1997).

No sistema intensivo a pasto os animais são manejados, em tempo integral, sob pastagens cultivadas. No sistema intensivo a pasto, mais de 50% da matéria seca fornecida aos animais é proveniente dessas pastagens (GOMES, 2001). Devido a esse fato e, também, à baixa necessidade de investimentos em infraestrutura, esse sistema caracteriza-se primordialmente por apresentar o menor custo de produção quando comparado aos demais sistemas produtivos (SANTOS, 2001).

No sistema intensivo semiconfinado os animais ficam em áreas restritas com alimentação e água disponível e, em determinados períodos do dia, são manejados sob pastagens cultivadas (KRUG, 2001). A grande vantagem desse sistema de produção reside na possibilidade de se obter alta produção em pequenas extensões de terra (GOMES, 2001).

No sistema intensivo confinado os animais recebem toda a alimentação no cocho. Para viabilizar a exploração leiteira neste sistema, é necessário produzir em larga escala para que se consiga obter o retorno do capital investido na atividade, pois é um sistema de produção que exige grandes investimentos em instalações, máquinas e equipamentos, o que acaba promovendo um aumento considerável dos custos de produção (GOMES, 2001).

Pela diversidade dos métodos de manejo empregados nos três sistemas intensivos e principalmente pelas diferenças entre os alimentos ofertados aos animais, espera-se que ocorram diferenças na produção e na composição do leite. As maiores produções são obtidas em vacas confinadas seguidas pelas vacas semi-confinadas e finalmente as manejadas a pasto (KRUG, 2001), porém qualquer que for o sistema utilizado deve contemplar sustentabilidade com qualidade e para avaliar as respostas de cada sistema é necessário possuir o registro e a análise periódica de informações.

#### 3.2 Qualidade do leite

A população cada vez mais preocupada com a saúde tem exigido alimentos que apresentem capacidade de atender as demandas nutricionais, conferir segurança alimentar, praticidade no preparo e respeito ao meio ambiente em todo o percurso da cadeia produtiva, do campo à mesa do consumidor.

Nos últimos tempos, a facilidade do acesso à informação tem causado dúvidas sobre os benefícios e riscos que o consumo de produtos de origem animal possa causar ao organismo humano, pelas interpretações equivocadas ou informações sem cunho científico. Às vezes, opiniões veiculadas na mídia têm comprometido a escolha pelo consumo de carnes, ovos e leite. Sem dúvida, a cadeia alimentícia, necessita criar sistemas de controle de qualidade e de certificação que atendam padrões internacionais de qualidade e que também possam servir como *marketing* num benefício mútuo entre consumidor e cadeia produtiva (MONARDES, 2008).

A produção de leite no Brasil ainda se caracteriza pela informalidade e pela qualidade questionável fora dos padrões aceitos internacionalmente, o que tem limitado a conquista de mercados externos (DÜRR, 2004; MONARDES, 2008). A capacidade produtiva e competitiva que o Brasil vem demostrando, foi motivo para o surgimento de novas barreiras técnicas no mercado internacional, muitas delas voltadas para critérios de sanidade animal e qualidade do leite. São exigências que, caso não atendidas, transformam-se em entraves à exportação de produtos lácteos brasileiros (DÜRR, 2004; VEIGAS, 2008).

Com o objetivo de promover a melhoria da qualidade do leite e derivados, garantir a saúde da população brasileira e aumentar a competitividade dos produtos lácteos em novos mercados, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) criou o Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNQL). A proposta mais objetiva do programa foi a publicação da Instrução Normativa (IN) 51/2002, onde se definiram regulamentos técnicos para a produção, identidade e qualidade dos diversos tipos de leite, e as condições para a sua refrigeração na propriedade rural e para o transporte do leite a granel até a indústria. A IN 51/2002 determina que a qualidade do leite de cada propriedade rural seja acompanhada através de análises laboratoriais para que se identifiquem os problemas na origem.

Para atender a demanda analítica, o MAPA criou uma estrutura laboratorial nos moldes encontrados em países com pecuária leiteira desenvolvida para monitorar os requisitos mínimos de qualidade que pudessem servir como indicadores para programar a política de profissionalização do setor leiteiro. Os laboratórios foram organizados em torno da Rede de Laboratórios Brasileiros de Qualidade do Leite (RBQL) e as análises a serem realizadas pelos laboratórios credenciados à RBQL são: determinação dos

componentes químicos (gordura, proteína, lactose e sólidos totais), componentes celulares (contagem de células somáticas e contagem bacteriana total) e pesquisa de resíduos de antibióticos (DÜRR, 2004).

A IN 51/2002 entrou em vigor em julho de 2005, mas foi ineficiente para resolver os problemas da qualidade do leite no Brasil. A incapacidade da força da lei para melhorar a qualidade do leite foi percebida nos diferentes estados brasileiros. No Rio Grande do Sul, SILVA et al. (2013a) concluíram que entre os anos de 2010 a 2012 os componentes químicos apresentaram variações sazonais, com a gordura e a proteína sendo maiores no outono e início de primavera e a lactose sendo maior na primavera e no verão. O grande problema encontrado nos componentes químicos foi relacionado com os sólidos não gordurosos (SNG) que em determinados períodos do ano se encontram abaixo de 8,4%, o mínimo exigido pela IN 51/2002. Segundo GONZÁLEZ et al. (2011) o valor do SNG chegaria, no máximo, a 8,33%, assumindo os valores médios de lactose e proteína encontrados nos diferentes trabalhos brasileiros, e um valor total de cinzas em torno de 0,7%. Isto significa que a IN 51/2002 está superestimando o teor de lactose, o que demanda mais pesquisa neste sentido para, se for o caso, modificar a norma estabelecida. Os parâmetros contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) também apresentam níveis além dos desejados em leite com qualidade. A CCS apresentou-se acima de 600.000 células/mL de leite na maioria dos meses entre os anos de 2010 e 2012 (SILVA et al., 2013b) e a CBT apresentou níveis alarmantes, em todos os meses no período de 2010 a 2012 (SILVA et al., 2013c).

A qualidade do leite depois de 8 anos de aplicação da IN 51/2002, não atingia os limites de qualidade exigidos pelo MAPA e para evitar a punição e exclusão de produtores, forças políticas reuniram-se no intuito de minimizar os efeitos sociais exigindo flexibilização das exigências impostas pela IN 51/2002, principalmente quanto a contagem de células somáticas e contagem total de bactérias, criando-se então a IN 62/2011, que não revogou por completo a IN 51/2002, mas apenas revogou os Anexos II e III e alterou os Anexos I, IV, V e VI da IN 51/2002, na forma dos Anexos I a IV da IN 62/2011.

### 3.3 Composição do leite

O leite é um dos alimentos mais ricos encontrados na natureza, composto por mais de 100.000 moléculas que colaboram com a nutrição e a imunidade dos mamíferos, servindo também como matéria prima para industrialização, possibilitando a produção de inúmeros derivados que servem como alimento para todas as faixas etárias dos humanos (BACHMAN, 1992).

A glândula mamária tem um incrível nível de organização e uma notável capacidade de converter nutrientes presentes da circulação sanguínea em componentes do leite. Sua síntese necessita de intenso trabalho metabólico e sua composição é influenciada pela espécie, raça, alimentação, estágio de lactação e estado sanitário das fêmeas. Nos bovinos, espécie mais utilizada na exploração leiteira devido ao volume de leite produzido, a síntese de 1 L de leite demanda aproximadamente 450 L de sangue, que ao percorrerem o tecido mamário, entregam nutrientes para a síntese láctea (GONZÁLEZ, 2001).

A composição química do leite pode ser dividida em constituintes principais e secundários quanto a sua contribuição por unidade de massa. Os principais referem-se a água, gordura, proteínas e lactose e os secundários a minerais, vitaminas, enzimas, células de descamação do epitélio mamário e leucócitos (DÜRR et al., 2000). O acompanhamento da composição do leite é importante para a avaliação da dieta e do metabolismo das vacas em lactação, classificação do leite pelo seu valor como matéria prima para a indústria processadora e verificação da integridade do leite quanto à adição ou retirada de componentes (DÜRR et al., 2001).

#### 3.3.1 Sólidos não gordurosos (SNG)

A nutrição da vaca tem efeito marcante sobre a composição do leite, principalmente, no teor de gordura. O valor de SNG do leite é composto por proteínas, lactose e minerais, e pode variar em função de mudanças na dieta, porém em menor intensidade do que a gordura. Outros fatores que influenciam o valor de SNG são a genética, as doenças, os estádio de lactação e as estação do ano.

Mudanças que ocorrem no valor de SNG do leite são primariamente devidas às mudanças na proteína e ocasionalmente ao teor de lactose. O fornecimento de proteína na dieta, além do requerido conforme o NRC, 2001, parece não exercer efeito sobre o teor de SNG. Entretanto, o fornecimento extra de energia para vacas de alta produção pode aumentar o valor de SNG em torno de 0,2%. Por outro lado, a redução no suprimento energético para níveis inferiores aos recomendados pode resultar em queda de 0,2 a 0,5%. Adição de fontes de gordura (animal-vegetal) na dieta tem apresentado resultados variados no valor de SNG, estando relacionados à fonte de forragem.

#### 3.3.2 Proteína

Atualmente a proteína é o nutriente mais valorizado nos atuais sistemas de pagamento por qualidade do leite, sendo a caseína seu principal componente. Depois da gordura, a proteína é o componente que mais varia em função de fatores ambientais, incluídos os nutricionais. Contudo, o potencial de alteração do teor de proteína no leite através da nutrição não é muito grande (em torno de 0,5%). Entretanto, à medida que aumenta o teor de proteína no leite, como a melhoria na energia da dieta, geralmente aumenta a produção total, o que não ocorre com a gordura (CARVALHO, 2002).

As proteínas do leite (caseínas e lactoglobulinas) são sintetizadas nas células secretoras da glândula mamária a partir de aminoácidos provenientes do sangue ou transportados do sangue. No entanto, alguns aminoácidos podem ser sintetizados na própria glândula mamária, através da utilização de precursores como a glicose, acetato e outros aminoácidos. A estrutura da proteína é determinada pela informação genética contida no DNA da célula, servindo de molde para uma fita de RNA, que contém a informação sobre a sequência de aminoácidos para síntese das proteínas (BEQUETE et al., 1998). A síntese das proteínas ocorre no retículo endoplasmático rugoso, sendo posteriormente secretadas para o lúmen das células através de vacúolos. A caseína constitui de 76 a 86% do total de proteína láctea, sendo o componente determinante do rendimento industrial na produção de queijo. É sintetizada pelas células secretoras, como resultado da expressão de quatro genes (dois genes para α-caseína, s1 e s2; um para β-caseína e um para κ-caseína), sendo secretada na forma de micelas, que são grupamentos de várias moléculas de caseína ligadas a íons como o fosfato e o cálcio, e se encontram em suspensão no leite (DE PETERS & CANT, 1992).

Ao contrário das caseínas, as proteínas do soro do leite, são aquelas em solução, produzidas na glândula mamária (α-lactoalbumina e β-lactoglobulina) e uma pequena porcentagem de proteínas que podem passar diretamente do sangue para a glândula mamária (albumina sérica e imunoglobulinas). O leite possui ainda uma fração de nitrogênio-não-protéico (NNP), constituindo cerca de 5% da proteína bruta do leite, composto principalmente de ureia (aproximadamente 48%) e em menor quantidade de creatinina, amônia e outros compostos nitrogenados (DE PETERS & FERGUSON, 1992). Uma equação para predizer a porcentagem de proteína verdadeira no leite foi proposta pelo NRC (2001), sendo 93% do valor de proteína bruta do leite.

De forma geral, as estratégias nutricionais que visam o aumento da proteína do leite devem ter como princípio o maior suprimento de aminoácidos e energia (glicose) para a glândula mamária. A utilização de aminoácidos pela glândula mamária é dependente de uma série de fatores como, irrigação sanguínea da glândula mamária, concentração arterial de aminoácidos, eficiência no transporte e regulação intracelular das vias metabólicas (BEQUETTE, et al., 1998). Segundo MURPHY & O'MARA (1993), a limitação da produção de proteína pela glândula mamária é devido principalmente aos seguintes aminoácidos: metionina, lisina, fenilalanina, histidina, ou treonina. O aumento no fornecimento de aminoácidos para a glândula mamária pode ser obtido através do aumento na quantidade de aminoácidos que chegam ao intestino delgado (proteína microbiana e proteína não degradada no rúmen), resultando em maior quantidade de aminoácidos absorvidos e disponíveis. Aminoácidos resultantes da mobilização protéica (endógena) também colaboram para esse *pool*. De forma geral, lisina e metionina são consideradas aminoácidos limitantes.

O teor de proteína bruta da dieta possui efeito muito pequeno sobre o teor protéico do leite. No entanto, o fornecimento de dietas com deficiências de proteína pode reduzir a concentração deste nutriente em 0,1 a 0,2 unidades percentuais (SUTTON, 1989), além de limitar a produção de leite. Pode-se dizer que a variação no teor proteico da dieta afeta muito mais a produção de leite do que sua composição.

No RS, relata-se um teor médio de proteína no leite de vacas da raça Holandesa de 3,12% (NORO et al., 2006), valor semelhante ao relatado no Paraná para a mesma raça (3,14%; BAJALUK et al., 1999). Em vacas Jersey do Paraná, o valor relatado é de 3,68% (RIBAS et al., 1999). Em amostras de leite de tanque refrigerado, nos estados de

Santa Catarina, Paraná e São Paulo, o valor médio de proteína no leite é de 3,24% (RIBAS et al., 2003), enquanto que no Rio Grande do Sul está entre 2,95 e 3,24% (DÜRR, 2003). A IN51/2002 exige um mínimo de 2,9% de proteína no leite cru refrigerado.

A concentração de proteína no leite pode estar afetada pelo estágio da lactação, sendo menor nos três primeiros meses e aumentando progressivamente à medida que a lactação avança. No RS, as pesquisas mostram essa tendência em rebanhos leiteiros, sendo o teor de proteína do leite menor nos primeiros 60 dias de lactação, apresentando elevação com o avanço da lactação. A concentração de proteína no leite pode diminuir quanto maior for o número de lactações da vaca, provavelmente pela menor eficiência das células alveolares nos animais mais velhos (NORO et al., 2006).

No RS, NORO et al. (2006) encontraram uma variação na concentração de proteína do leite ao longo do ano, sendo verificado maior teor nos meses de maio a setembro, correspondendo às estações de outono/inverno e menor nos meses de verão. O maior teor não só de proteína, como de gordura e de lactose no leite, durante os meses de inverno, pode estar relacionado com a melhor qualidade nutritiva das pastagens temperadas, que os rebanhos utilizam nessa região, comparadas às pastagens tropicais de verão.

A idade da vaca ao parto pode afetar o teor de proteína do leite. CARVALHO et al. (2002) mencionam que quanto maior o número de lactações, menor será a concentração de proteína no leite. No RS, NORO et al. (2006) observaram que vacas com partos entre 33 a 45 meses de idade, tinham maior valor de proteína que vacas de primeiro parto (entre 20 a 32 meses) ou de maior idade.

Em rebanhos do RS, MARQUES et al. (2002) encontraram que o volume de produção de leite na propriedade pode afetar o teor de proteína do leite. Naquelas propriedades com produção de 50-99 L/dia, o teor de proteína foi maior que rebanhos com maior produção (>100 L/dia).

#### 3.3.3 Lactose

A lactose é um dissacarídeo formado por glicose e galactose com união α 1-4 e sintetizada exclusivamente na glândula mamária ativa. A síntese é realizada no aparelho de Golgi das células do epitélio mamário. As moléculas precursoras, glicose e galactose, provêm principalmente da glicose sanguínea ou de substâncias rapidamente conversíveis em glicose, através da via gliconeogênica como o propionato, o piruvato, o oxalacetato e os aminoácidos. Metade da glicose que chega à glândula mamária é direcionada para a síntese de lactose, e a outra metade para a formação de glicerol, necessário para a síntese dos triglicerídeos do leite (GONZÁLEZ & SILVA, 2006).

No leite dos bovinos, a lactose apresenta concentração de 4,6% e é considerado o constituinte mais constante. Sua função está relacionada com a manutenção da osmolaridade e com os processos de produção e secreção do leite (LARSON, 1995). A lactose corresponde por aproximadamente 50% da capacidade de atração de água para o interior do alvéolo mamário, sendo responsável por sustentar a produção de leite. Essa é, provavelmente, a razão de ser o componente com a menor variação (GONZÁLEZ et al., 2011).

O teor médio de lactose citado em rebanhos da raça Holandesa na Nova Zelândia é de 4,83% (AULDIST et al., 1998), valor bem acima dos resultados relatados por diferentes autores do Brasil, de 4,52% no Rio Grande do Sul (NORO et al., 2006), 4,56% no Paraná, Santa Catarina e São Paulo (RIBAS et al., 2003), 4,55% em São Paulo (MACHADO et al., 2003) e 4,59% no Espirito Santa, Minas Gerais e Rio de Janeiro (BRITO & PORTUGAL, 2003).

NORO et al. (2006) mostraram interferências da lactação e idade da vaca nos teores de lactose. Nos primeiros 60 dias de lactação ocorreram os maiores teores, que diminuíram significativamente à medida que aumenta a idade da vaca.

Embora se considere que a lactose é o componente lácteo que apresenta menor variação, trabalhos anteriores realizados no Brasil revelam diferenças significativas em relação a variáveis ambientais. Fatores que rompem o equilíbrio metabólico da glândula mamária tais como a mastite, podem diminuir o conteúdo de lactose no leite (GONZÁLEZ et al., 2011). Assim, deve se esperar que aumentos na CCS estejam relacionados com menor teor de lactose. A diminuição do teor de lactose à medida que

aumentam as células somáticas foi confirmada nos estados de São Paulo e Minas Gerais por MACHADO et al. (2000), no Paraná por PERES JUNIOR et al. (2002) e no Rio Grande do Sul por MARQUES et al. (2002) e por NORO et al. (2006).

Segundo HURLEY (2004) a lactose é relativamente insensível às mudanças na dieta das vacas, no entanto, vacas subnutridas apresentam redução na produção de leite e na percentagem de lactose, sendo que estes sintomas são revertidos quando dietas adequadas são fornecidas.

Em situações de balanço energético negativo (cetose), principalmente no pré ou pós-parto imediato, em que não há pico de lactação, há diminuição no teor de lactose. A sua produção no úbere está relacionada à produção de propionato no rúmen e disponibilidade de produtos gliconeogênicos. Quanto mais lactose for produzida, maior é o volume de água arrastado para dentro do alvéolo, aumentando o volume de leite (MUHLBACH, 2003).

Existem também relatos de que a baixa relação forragem:concentrado na dieta pode aumentar a lactose do leite e que a elevada suplementação com gorduras pode causar diminuição (SUTTON, 1989). Embora estas mudanças sejam estatisticamente significativas, elas são tão pequenas que a lactose do leite não pode ser usada como um valor prático indicador do "status" nutricional do animal.

#### 3.3.4 Gordura

O componente lipídico do leite é formado por uma complexa mistura, sendo os triglicerídeos os mais importantes. Estes são compostos de três ácidos graxos em ligação covalente a uma molécula de glicerol por pontes éster. A gordura do leite é secretada das células mamárias na forma de glóbulos graxos, principalmente compostos de triglicerídeos rodeados de uma dupla camada lipídica similar à membrana apical da célula epitelial. A fração de gordura do leite serve de veículo para as vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K), colesterol e outras substâncias solúveis em gordura, como os carotenóides (provitamina A), que dão ao leite sua cor amarelo-creme. A quantidade e a composição dos triglicerídeos do leite variam muito entre as espécies. Nos ruminantes, a proporção de ácidos graxos de cadeia curta e insaturados é bem maior que nos monogástricos (GONZÁLEZ et al., 2001; GONZÁLEZ & SILVA, 2006).

Os ácidos graxos do leite são oriundos de duas fontes, da síntese "do novo" na glândula mamária e da captação direta na circulação sanguínea. Ácidos graxos de cadeia curta, contendo entre 4 e 8 carbonos, e de cadeia média, com 10 a 14 carbonos, provêm quase que exclusivamente da síntese "do novo". Os ácidos graxos de cadeia longa, constituídos por cadeias superiores a 16 carbonos, são derivados da captação direta dos lipídeos da corrente sanguínea pela glândula mamária. Os ácidos graxos com 16 carbonos podem ser obtidos através das duas fontes. Cerca de metade dos ácidos graxos do leite são sintetizados pela própria glândula mamária, a partir da síntese "de novo". Esta via utiliza como principal fonte de carbono o acetato produzido na fermentação ruminal. Outra fonte para a síntese "de novo" é o β-hidroxibutirato produzido pelo epitélio ruminal, a partir do butirato. Os ácidos graxos pré-formados captados pela glândula mamária e diretamente usados para a síntese de gordura do leite são derivados das lipoproteínas circulantes provenientes da mobilização de reservas corporais e dos ácidos graxos não esterificados originários da absorção dos lipídeos no trato gastrointestinal. Em condições normais, a lipólise é responsável por menos de 10% dos ácidos graxos da gordura do leite, sendo a maior parte dos ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) do leite proveniente da absorção intestinal. No entanto, animais em balanço energético negativo, com grande mobilização de gordura corporal, têm a lipólise como fonte de uma maior contribuição de gordura do leite (BAUMAN & GRIINARI, 2003).

A gordura é o principal componente energético do leite, sendo também responsável pelas propriedades físicas, às características industriais, e as qualidades organolépticas do leite e seus derivados e, por isso, a gordura láctea possui um importante valor econômico (BAUMAN & GRIINARI, 2003).

No Brasil, ainda persiste o pagamento do leite pela produção total e o teor de gordura. Nos últimos anos, diversos países têm dado maior ênfase para o teor de proteína, utilizando este critério nos sistemas de pagamento por qualidade. Esta tendência se explica porque, enquanto a gordura tem tido seu valor reduzido pelos hábitos de consumo da população, a proteína tem sido valorizada por ser determinante do rendimento industrial de derivados lácteos (MONARDES, 1998). No Brasil a IN 51/2002 estabelece que o limite mínimo para a gordura no leite cru refrigerado deve ser de 3%.

Vários aspectos exercem efeito sobre a concentração de gordura no leite. O fator racial e a seleção genética, o estágio de lactação, a temperatura ambiente e as condições de estresse do animal, a perda de condição corporal, a estação do ano, a contagem de células somáticas, a saúde geral do animal, a manifestação de cio, a frequência e a técnica de ordenha e, principalmente, os fatores nutricionais têm sido implicados como fatores que contribuem com a variação da constituição lipídica do leite (GONZÁLEZ & CAMPOS, 2003; NORO et al., 2006; BARBANO, 1990; CARVALHO, 2002; RIBAS et al., 2001; MARQUES et al., 2002).

Em ruminantes, a composição dos ácidos graxos da dieta não reflete a composição dos ácidos graxos da gordura do leite, devido a que os constituintes lipídicos da dieta são alterados pelo metabolismo microbiano (BAUMAN & GRIINARI, 2003).

Os fatores nutricionais são os que podem alterar de forma mais direta e com resultados mais rápidos e evidentes a gordura do leite. No entanto, a manipulação da dieta visando alterações na gordura do leite demanda conhecimento aprofundado, uma vez que esta manipulação afeta não somente a fermentação ruminal, como também o metabolismo geral do animal (MÜHLBACH, 2003).

A alimentação fornecida para as vacas leiteiras influencia o funcionamento normal do rúmen. Para manter a ruminação e a consequente produção de saliva, a dieta deve apresentar uma relação mínima de volumoso/concentrado de 50/50 para manutenção de um pH adequado, acima de 6,0, quando a fermentação da fibra é favorecida, propiciando uma maior ingestão de matéria seca e, consequentemente, maior produção de leite. A efetividade da fibra utilizada também deve ser levada em conta, o que se reflete diretamente na condição ruminal e na gordura do leite. A fibra efetiva atua estimulando a ruminação e a produção de saliva, o que mantém o pH favorável para a digestão da fibra, resultando em maior disponibilidade de ácido acético, o principal precursor da gordura no leite (MÜHLBACH, 2003).

O fornecimento de grandes quantidades de carboidratos prontamente fermentáveis e reduzida quantidade de fibra, ou dietas com quantidade adequada de fibra, mas com fibra de pouca efetividade, possuem pouca capacidade de manutenção do funcionamento normal do rúmen, podendo assim, levar a depressão na gordura do leite (BAUMAN & GRIINARI, 2003). Quando o consumo de concentrados ultrapassa

50% da matéria seca da dieta, ocorre depressão na gordura do leite e mudanças também na composição dos ácidos graxos (PALMQUIST et al., 1993).

A suplementação com óleos poli-insaturados, provenientes de fontes vegetais ou marinhas, também reduzem a gordura do leite. O mesmo ocorre quando sementes de oleaginosas, ricas em ácidos graxos poli-insaturados, são adicionadas em grande quantidade à dieta (BAUMAN & GRIINARI, 2003).

GRIINARI et al. (1998), confirmaram que dietas pobres em fibra e ricas em ácidos graxos insaturados (óleo de milho) aumentam o conteúdo de C18:1 trans. Segundo estes mesmos autores, este tipo de dieta está associado a uma diminuição significativa na produção e conteúdo da gordura do leite.

A utilização de aditivos também interfere na síntese de gordura. É o caso dos tamponantes e alcalinizantes que minimizam a queda do pH ruminal, favorecendo a digestão da fibra, e dos manipuladores de fermentação (ionóforos) que alteram o perfil dos ácidos graxos voláteis (AGV) no rúmen, reduzindo perdas com metano e gás carbônico e diminuindo a relação acetato/propionato.

Em dietas com grandes quantidades de concentrados (acima de 50% da matéria seca), ou grandes quantidades de alimentos fermentados, recomenda-se o uso de bicarbonato de sódio ou suplementos minerais tamponantes para normalizar o ambiente ruminal e, consequentemente, o teor de gordura do leite. Nestes casos, a ação dos tamponantes alimentares compensa a menor ruminação, que por sua vez proporciona uma menor taxa de salivação e tamponamento natural do rúmen. Como o bicarbonato de sódio é de curta ação no rúmen, aditivos probióticos, como cepas específicas de leveduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*) vêm sendo utilizadas como complemento aos sais tamponantes. Em face de sua ação metabólica mais prolongada no rúmen, a levedura promove uma maior estabilidade do rúmen, mantendo o ambiente ruminal mais favorável à digestão da celulose por elevar a densidade populacional das bactérias celulolíticas e consumidoras de lactato (MÜHLBACH, 2003).

SAUER et al. (1998) determinaram que a adição de monensina à dieta de vacas leiteiras diminuiu a produção de metano e a ingestão de matéria seca. A gordura total e a percentagem de gordura diminuíram temporariamente. No entanto, a produção de leite

e a quantidade de todos os ácidos graxos insaturados aumentaram, incluindo o ácido linoleico conjugado (CLA), enquanto os saturados diminuíram.

Várias teorias têm sido propostas na tentativa de se explicar a depressão da gordura do leite, sendo a base para o desenvolvimento de todas as teorias os processos microbianos no rúmen (BAUMAN & GRIINARI, 2003). Das diversas teorias propostas, três delas continuam tendo suporte na literatura científica.

A primeira delas sugere que o maior fornecimento de concentrado na dieta, com elevação da proporção concentrado/volumoso, aumenta a produção de ácidos no rúmen, o que promove a queda do pH ruminal. Em pH baixo, a degradação da fibra é comprometida, promovendo alterações na fermentação ruminal, resultando em inadequada produção de acetato e butirato, limitando sua utilização na síntese da gordura do leite. BAUMAN & GRIINARI (2003) concluem que a variação na concentração de gordura do leite é justificada pelas variações na proporção molar de AGV no rúmen. Em outros estudos, observou-se que a produção de acetato não foi afetada significativamente, no entanto, a relação molar de acetato/propionato do fluido ruminal apresentou forte queda. Essa queda na relação acetato/propionato foi proporcionada principalmente pela elevação na produção de propionato e não pela queda na produção de acetato (BAUMAN et al., 1971).

Apesar das evidencias de que em dietas com baixa fibra a produção de acetato e butirato não são afetadas de forma apreciável, um déficit desses AGV é frequentemente considerada como colaborador na redução da gordura do leite. Isto pode ser atribuído ao fato de que dietas com baixa fibra normalmente reduzem o pH e isto afetará a taxa relativa de absorção individual de ácidos graxos voláteis (BAUMAN & GRIINARI, 2003).

A segunda teoria ou teoria glicogênica-insulina é baseada na competição por nutrientes, entre a glândula mamária e outros tecidos. Dietas com baixa fibra resultam em aumento da produção de propionato no rúmen e elevação da taxa de gliconeogênese hepática. Além disto, estas dietas resultam em melhor balanço energético devido a maior ingestão de energia e redução na secreção da gordura do leite. Como consequência dessa combinação de fatores, a concentração de insulina no sangue é aumentada, desviando nutrientes da glândula mamária. Isto ocorre porque a insulina aumenta a utilização de acetato, β-hidroxibutirato e AGCL no tecido adiposo, ou seja,

há um aumento da lipogênese. Além disso, a insulina também reduz a mobilização dos AGCL das reservas corporais. A teoria glicogênica tem sido avaliada por meio de infusões exógenas de propionato e glicose. Os resultados encontrados de redução na gordura do leite têm se mostrado altamente variáveis, entre 0 e 14% (BAUMAN & GRIINARI, 2003).

A terceira teoria é a que, na última década, tem recebido maior suporte dos pesquisadores. Esta teoria sugere que certas dietas alteram a biohidrogenação dos ácidos graxos insaturados no rúmen, produzindo ácido graxo intermediário denominado de ácido linoleico conjugado (CLA) trans-10, cis-12. Estes AGCL teriam uma potente ação inibidora da síntese de gordura no leite (BAUMAN & GRIINARI, 2003). O CLA trans-10, cis-12 diminui a capacidade lipogêncica da glândula mamária (taxas de incorporação de acetato em ácidos graxos) e a expressão de genes de enzimas relacionadas ao transporte de ácidos graxos circulantes, diminui a síntese "de novo" de ácidos graxos, a dessaturação de ácidos graxos e a formação de triglicérides (BAUMGARD et al., 2002).

#### 3.3.5 Contagem de Células Somáticas (CCS)

Células somáticas são todas as células presentes no leite, que incluem as células originárias da corrente sanguínea como leucócitos e células de descamação do epitélio glandular secretor. Em casos de inflamação (mastite), há um aumento considerável na CCS, principalmente por neutrófilos. É importante quantificar e qualificar os tipos celulares presentes para conhecer o grau de inflamação e caracterizar se a doença é aguda ou crônica. Além do aumento do número de células, a mastite provoca alterações nos três principais componentes do leite, gordura, proteína e lactose. A extensão do aumento da CCS e as mudanças na composição do leite estão diretamente relacionadas com a superfície do tecido mamário atingido pela reação inflamatória. Portanto, há uma relação direta entre a CCS e a concentração dos componentes do leite (BUSATO, 2000). Em relação às proteínas ocorre uma redução naquelas sintetizadas na glândula mamária (α e β caseína, α-lactoalbumina e β-lactoglobulina) e aumento das proteínas de origem sanguínea (albumina sérica e imunoglobulinas), em virtude do aumento de permeabilidade vascular secundário ao processo inflamatório. A proteína total do leite

tem pouca variação, mas a concentração de cada tipo de proteína varia acentuadamente (RIBAS, 1999).

A CCS no leite é uma ferramenta valiosa na avaliação e estimativa das perdas quantitativas e qualitativas da produção do leite e derivados, como indicativo da quantidade do leite produzido na propriedade e para estabelecer medidas de prevenção e controle da mastite. Uma dessas medidas pode ser a implantação de protocolos de manejo de ordenha. Como consequência de altos níveis de células somáticas, observamse prejuízos tanto ao produtor de leite quanto à indústria de laticínios. As maiores perdas causadas ao produtor estão relacionadas à redução da produção. Consequentemente, esta redução gera problemas de captação da matéria-prima para a indústria (FONSECA & SANTOS, 2000). As perdas sofridas pela indústria são causadas pelas alterações químicas e microbiológicas do leite com alta CCS, acarretando em diminuição do rendimento industrial e redução de sua qualidade final (FONSECA & SANTOS, 2000).

No Rio Grande do Sul (RS), NORO et al. (2006) relataram uma média global de CCS de 390x10<sup>3</sup> células/mL. Em rebanhos leiteiros no Paraná, OSTRENSKY et al. (2000) encontraram uma CCS em torno de 300x10<sup>3</sup>/mL. Em tanques refrigerados, DÜRR (2003) encontrou uma variação de CCS em amostras do Rio Grande do Sul entre 426 e 540x10<sup>3</sup>/mL e RIBAS et al. (2003) no Paraná relataram uma média de 486x10<sup>3</sup>/mL em amostras de Santa Catarina, Paraná e São Paulo. SOUZA et al. (2003) em Minas Gerais, encontraram uma CCS média de 242,7x10<sup>3</sup>/mL, enquanto que MACHADO et al. (2000) em São Paulo encontraram CCS média de 530x10<sup>3</sup>/mL e em Espírito Santo, Rio de Janeiro e Minas Gerais, BRITO (2003) relata uma CCS média de 493x10<sup>3</sup>/mL.

Nas condições brasileiras, considera-se que, em animais sadios, a CCS individual no leite deve ser menor de  $300 \times 10^3 / \text{mL}$  (SANTOS & FONSECA, 2002), mas em países com maior desenvolvimento esse limite chega a  $200 \times 10^3 / \text{mL}$  (PHILPOT, 1998). A contagem de células somáticas de tanque (CCST) possui limites legais maiores, sendo de  $400 \times 10^3 / \text{mL}$  em países da União Europeia e Austrália, de  $500 \times 10^3 / \text{mL}$  no Canadá e de  $750 \times 10^3 / \text{mL}$  nos EUA (BRITO, 2003). No Brasil, a determinação legal para CCST (Instrução Normativa 62/2011) é de  $500 \times 10^3 / \text{mL}$ , valor que deve diminuir para  $400 \times 10^3 / \text{mL}$  a partir de primeiro de julho de 2016.

## 3.4 Controle leiteiro

A necessidade de manter o controle sobre os meios produtivos fez com que técnicos e produtores de leite, inicialmente, realizassem os registros dos acontecimentos (produção e reprodução) em fichas ou cadernetas, sem o uso de recursos da informática. Com a necessidade de melhorar os sistemas produtivos, principalmente pelas tendências atuais de competitividade global, verificou-se a necessidade premente do uso de modernas técnicas para que os produtores pudessem maximizar sua eficiência produtiva tornando-se competitivos. A informatização veio como um instrumento valioso na interpretação dos registros para a tomada de decisões, fornecendo elementos que podem indicar quais os pontos de estrangulamento do setor que necessitam ser esclarecidos pela pesquisa científica.

Os países com pecuária leiteira desenvolvida fazem uso intenso do controle leiteiro para manter alta produtividade nas fazendas e melhorar a qualidade do leite. Na América do Norte, o controle zootécnico de animais leiteiros, tem mais de cem anos. Começou como uma maneira de identificar os melhores países para transmissão da melhor genética e depois se converteu na melhor ferramenta de manejo para a propriedade.

Hoje, frente às preocupações causadas pela inocuidade dos alimentos, o controle leiteiro se apresenta com um método interessante para assegurar a rastreabilidade do gado e dos produtos de origem animal. Os países em desenvolvimento possuem problemas econômicos e organizacionais para desenvolver programas de registro e controle leiteiro sustentável. Em alguns destes países o controle leiteiro tem se desenvolvido graças à iniciativa isolada de universidades e associação de criadores. Projetos de colaboração internacional têm servido para promover estas atividades, mas a sustentabilidade do controle não é por isso assegurada (MONARDES 2008).

Segundo DÜRR et al. (2011), o controle leiteiro é uma ferramenta de mensuração mensal da produção, dos eventos e da qualidade do leite de cada vaca do rebanho em um determinado período de tempo. As interações e interpretações destas informações fornecem subsídios para as decisões de manejo nutricional, sanidade da glândula mamária, reprodução, descartes, acasalamentos e qualidade do leite. Permite ainda, manutenção de registros vitalícios, valorizando o plantel através das informações de lactações encerradas, avaliações genéticas e rastreabilidade dos animais.

Os dados mensais obtidos para cada vaca, tais como a produção de leite, teores de gordura e proteína e a CCS, são utilizados para calcular o valor genético de cada animal, que por vezes, formam a base para a gestão da propriedade no que se refere a nutrição, controle de mastite, reprodução e o descarte de animais (MONARDES, 2008; DÜRR, 2011).

O Serviço de Análise de Rebanhos Leiteiro (SARLE) é um dos laboratórios de pesquisa e prestação de serviços do Centro de Pesquisa em Alimentação (CEPA) da Universidade de Passo Fundo (UPF), que tem disponibilizado aos produtores de leite do sul do país um programa de gerenciamento de rebanhos nos moldes dos trabalhos realizados pelo programa Dairy Herd Improvement (DHI) do Canadá. O programa consiste na coleta mensal de informações e amostras individuais de leite de cada animal do rebanho que são enviadas ao laboratório para determinação da composição química e para contagem de células somáticas (CCS) no leite. Além dos resultados de qualidade do leite, informações sobre todos os eventos que ocorreram com a vaca são coletados e informados ao SARLE. Com base nestas informações e nos resultados de laboratório, o SARLE fornece relatórios mensais com as informações já processadas, prontas para servirem de suporte na avaliação da situação atual do rebanho e na tomada de decisões do produtor/técnico (BONDAN, 2014).

Os benefícios do controle leiteiro podem ser comprovados pela média de produção dos rebanhos que utilizam esta ferramenta comparando com os demais que não utilizam o recurso. Em 2012, o Brasil produziu uma média de 4,64 L/vaca/dia, enquanto a produção nos três estados do sul foi: Paraná 8,05 L/vaca/dia, Santa Catarina 8,26 L/vaca/dia e Rio Grande do Sul 8,75 L/vaca/dia, considerando lactações de 305 dias (MONTOYA et al., 2014). Em rebanhos que utilizaram o controle leiteiro, NORO et al. (2006) encontraram médias de 19,36 L/vaca/dia no Rio Grande do Sul, BAJALUK et al. (1999), encontraram médias de 24,77 L/vaca/dia no Paraná e COSTA et al. (2013), na região dos Campos Gerais no estado do Paraná encontraram média de 30,9 L/vaca/dia. Estas diferenças de produtividade estão relacionadas com o balanço nutricional, características raciais e genéticas, condições ambientais e a interferência humana. O controle leiteiro permite maior segurança nas decisões sobre as ações de manejo a serem recomendadas nos rebanhos, para obter efeitos previamente desejados (DÜRR et al., 2011).

# 3.5 Desequilíbrios metabólicos

A composição do leite deriva de precursores provenientes do sangue, os quais podem ter origem endógena (reservas do animal) ou exógena (dieta). Dessa forma, a composição química do leite está afetada pelo status metabólico e nutricional do animal. Em vacas leiteiras especializadas, a alta produção de leite exige demandas metabólicas desafiantes ao equilíbrio homeostático que, em não poucas oportunidades, resultam em alterações metabólicas evidentes (clínicas) ou manifestadas por sinais não clínicos (subclínicas), mas que potencialmente podem estar afetando as características físico-químicas do leite, repercutindo na sua qualidade. A própria composição do leite também pode ser um bom indicador do status nutricional e metabólico (GONZALEZ, 2003).

Neste sentido, têm sido relatadas alterações na qualidade do leite devidas a causas não higiênicas ou sanitárias, isto é, devidas a desequilíbrios ou às vezes até à ruptura da homeostasia energética, proteica ou mineral da vaca leiteira (BARROS, 2001, 2004; SANTOS, 2004; ZANELA et al., 2006). Estas alterações são multifatoriais e até hoje difíceis de entender e mais ainda de diagnosticar. Elas são responsáveis pela perda da qualidade do leite como produto industrial, afetando sua estabilidade no processamento de derivados lácteos. As múltiplas alterações na composição química e nas características físicas do leite devem receber um enfoque integral que envolva aspectos do metabolismo, da alimentação, do manejo, da época do ano e de possíveis transtornos do rúmen.

Algumas doenças metabólicas têm sido responsabilizadas como causantes de alterações na composição do leite, entre as que são citadas cetose, acidose, hipocalcemia e deslocamento do abomaso (BARROS, 2004). Todavia, situações subclínicas dessas doenças, desequilíbrios energético-protéicos e minerais e limitações de nutrientes podem concorrer como fatores causadores de alterações nas características físico-químicas do leite.

No diagnóstico e estudo dos transtornos metabólico-nutricionais, têm sido empregados desde 1970 os chamados perfis metabólicos, exames que permitem estabelecer por meio de análises sanguíneas e de outros fluidos biológicos, realizados em grupos representativos de animais de um rebanho, seu grau de adequação aos desafios metabólicos da lactação, bem como a funcionalidade de órgãos vitais para este processo, como é o caso do fígado (WITTWER, 2000). O leite e é considerado valioso

fluido biológico que pode dar informação complementar aos indicadores metabólicos do sangue. As informações dos dois fluidos podem ser vitais na tomada de decisões com relação à interpretação da adaptação metabólica, a tratamentos e a mudanças de manejo alimentar. Dessa forma, o leite adquire um caráter duplo, como fluido industrial e como fonte de informação metabólica. As duas características têm estreita relação, pois modificações devidas a adaptações ou desequilíbrios do metabolismo têm impacto no comportamento do leite durante o processo industrial.

O período mais crítico em que podem ocorrer desequilíbrios metabólicos nas vacas leiteiras, que eventualmente terminam em transtornos específicos, é o chamado período de transição, que corresponde às mudanças alimentares e metabólicas entre o período seco de final da gestação e o início da lactação (DRACKLEY, 1999). O período de transição é constituído por duas fases, sendo a primeira formada pelas três últimas semanas que antecedem o parto e a segunda pelas três primeiras semanas pós-parto (GRUMMER, 1995). Este período é marcado por mudanças endócrinas e metabólicas que preparam as vacas para o parto e a lactação. O fim da fase não-lactante e o início da lactante, juntamente com o estresse do parto, acarretam mudanças que afetam o consumo de alimentos e o metabolismo das vacas leiteiras (VASQUE-ANON et al., 1994).

HERDT (1988) observou que o fim da gestação e o início da lactação representam uma difícil fase para a vaca leiteira, devido à grande demanda metabólica. Além do grande requerimento de energia, há também necessidade de enormes quantidades de glicose para sustentar a síntese de lactose pela glândula mamária. Vacas de alta produção podem requerer até 80% do suprimento total de glicose para produzirem leite. Nesta fase, é comum o aparecimento de transtornos metabólicos que afetam a saúde e a produção.

Nesse período as vacas de alta produção podem apresentam balanço energético negativo que repercute em lipomobilização, geração de corpos cetônicos e risco de injúria hepática (BAUMAN & CURRIE, 1980). O manejo alimentar é crítico e as necessidades de produção obrigam ao uso de glicídeos de rápida fermentação (concentrados) que devem estar em proporção adequada com a quantidade e qualidade da fibra (volumoso) para não ocorrer uma ruptura da homeostasia energética. Além

disso, desequilíbrios energético-protéicos podem ser causa de aumento de ureia com consequências na qualidade do leite e na fertilidade da vaca (LARSON et al., 1997).

Embora diferenças genéticas dos rebanhos, ambiente e manejo possam interferir no metabolismo, os parâmetros mais utilizados para determinar os riscos de doenças metabólicas são ácidos graxos não-esterificados (AGNE), beta-hidroxibutirato (BHB), aspartato aminotransferase (AST) albumina, proteínas plasmáticas totais (PPT), globulinas, cálcio, fósforo e magnésio (VAN SAUN, 2010). Todos os problemas enumerados, que não são os únicos a ocorrer durante a lactação, têm efeitos no equilíbrio metabólico e na composição do leite e podem ser diagnosticados, principalmente em manifestações subclínicas, mediante indicadores nos fluidos biológicos.

# 3.5.1 Indicadores sanguíneos dos transtornos metabólicos

Na maioria dos transtornos metabólicos, as alterações bioquímicas iniciais podem ser detectadas no líquido ruminal, na urina e no leite (BOUDA et al., 2000).

A composição bioquímica do sangue reflete de maneira confiável o equilíbrio entre o ingresso, o egresso e a metabolização dos nutrientes nos tecidos animais. O grau de equilíbrio chama-se hemostasia, processo em que estão envolvidos complexos mecanismos metabólico-hormonais. A interpretação dos componentes químicos do sangue, conhecidos como perfil metabólico, pode ser útil para diagnosticar diferentes desequilíbrios no animal (GONZÁLEZ, 1997).

A aplicação de perfis bioquímicos, levando em conta as características dos rebanhos, a localização geográfica e o estado fisiológico dos animais, oferece uma importante perspectiva para detectar em tempo alguns distúrbios que afetam a saúde dos rebanhos (WITTWER, 2000). Quando estes desequilíbrios são de curta duração e não muito severos, o metabolismo pode compensar utilizando reservas corporais. Se for mais grave, o animal pode esgotar suas reservas corporais, não havendo compensação. Muitos destes desequilíbrios podem causar doenças subclínicas que são de difícil percepção, limitando a produção de leite, ocasionando perdas na rentabilidade do produtor e provocando possíveis alterações na composição e qualidade do leite (CORRÊA et al., 2010).

O perfil metabólico busca informações sobre as principais doenças que acometem as vacas leiteiras no período de transição. Atualmente o foco dos estudos estão voltados para duas doenças subclínicas, a cetose e a hipocalcemia que estão interconectadas com outras doenças que acarretando perdas importantes aos produtores. Nos Estados Unidos o Dairy Animal Health Monitoring System (NAHMS, 2007) relata uma prevalência de mastite clínica de 16,5%, laminite de 14,0%, retenção de membranas fetais de 7,8%, hipocalcemia de 4,9%, distocia/metrite de 4,6% e deslocamento de abomaso à esquerda de 3,5%, havendo correlação entre estas doenças com a cetose ou hipocalcemia (VAN SAUN, 2010).

Segundo WITTWER (1995), o perfil metabólico pode ser utilizado para testar o metabolismo proteico (hemoglobina, ureia, proteínas totais, albumina e globulinas), perfil energético (glicose, corpos cetônicos, beta-hidroxibutirato, ácidos graxos não esterificados, triglicerídeos e colesterol), perfil mineral (cálcio, fósforo inorgânico, magnésio, sódio, potássio, cobre, zinco e selênio) e a função hepática (enzimas aspartato aminotransferase, fosfatase alcalina, alanina aminotransferase e gama glutamil transferase). O número de variáveis potencialmente mensuráveis no perfil metabólico é limitado, mas na prática são utilizadas somente aquelas das quais se possui um adequado conhecimento sobre a sua fisiologia e bioquímica, de modo a permitir a interpretação correta dos resultados obtidos. Também são necessários métodos e equipamentos economicamente viáveis, além de valores de referência que permitam a comparação com os resultados obtidos.

## 3.5.2 Indicadores do perfil energético

No estado de equilíbrio energético, o nível de ácidos graxos livres plasmáticos da vaca pode aumentar em estados de deficiência energética, quando ocorre mobilização de lipídeos. Os depósitos de triglicerídeos no tecido adiposo estão sofrendo contínua hidrólise (lipólise) e reesterificação (lipogênese). Estes dois processos inversos ocorrem por duas vias metabólicas diferentes, cuja relação determina o nível plasmático dos ácidos graxos. A mobilização de lipídeos (relação lipólise/lipogênese) é um processo controlado endocrinamente. Os hormônios que estimulam a lipólise são principalmente adrenalina e glucagon, que são secretados quando diminuem os níveis de glicose sanguínea. Outros hormônios que também têm ação lipolítica são ACTH, TSH, MSH,

GH e vasopressina. Na lipólise, os triglicerídeos armazenados nas células adiposas sofrem hidrólise por ação da lipase hormônio-sensível para produzir três ácidos graxos livres e glicerol. O glicerol não pode ser utilizado pelo tecido adiposo e deve sair para o sangue e ir para o fígado para formar glicose via gliconeogênese ou entrar na rota glicolítica (GONZÁLEZ, 2006). A mobilização lipídica aumenta a concentração plasmática de ácidos graxos não esterificados (AGNE) os quais são transportados até o fígado para sua esterificação e produção de triglicerídeos. Durante o balanço energético negativo há maior demanda de oxalacetato para a gliconeogênese e há maior ingresso de AGNE para a mitocôndria para produzir corpos cetônicos (beta-hidroxibutirato, acetoacetato e acetona) os quais são fontes de energia para os bovinos adultos. Porém quando a produção excede a capacidade do organismo de utilizá-los, seu aumento produz cetose (OSPINA et al., 2010).

Segundo CORRÊA et al. (2010), estudos realizados no Brasil indicam que a cetose clínica apresenta uma prevalência de 8 a 34%. A forma subclínica da doença pode ultrapassar 50% de ocorrência sendo que 90% dos diagnósticos de cetose subclínica ocorrem principalmente entre a segunda e terceira semana de lactação.

O monitoramento do balanço energético negativo pode ser realizado através da determinação da concentração plasmática de AGNE e para a determinação da cetose o beta-hidroxibutirato (BHB) plasmático é considerada ideal (OSPINA et al., 2010). Devido às variações metabólicas que ocorrem nas vacas no período de transição, CUCUNUBO et al. (2013) propuseram dois pontos de corte para o diagnóstico da mobilização lipídica e do balanço energético negativo na forma subclínica. O primeiro leva em consideração o período pré-parto quando os limites de AGNE devem ser maiores que 400 µmol/L e no pós-parto maiores que 700 µmol/L. Para o monitoramento da cetose subclínica no período pré-parto utilizando como indicador o BHB plasmático existem divergências entre trabalhos encontrados na literatura para o estabelecimento do ponto de corte: WALSH et al. (2007) estabelecem 1,0 mmol/L, SEIFI et al. (2010) 1,2 mmol/L e CARRIER et al. (2014) 1,4 mmol/L.

Nos casos de cetose, além dos corpos cetônicos, outros parâmetros bioquímicos podem estar alterados. Concomitantemente, os valores de glicemia estão baixos e os de ureia elevados. As enzimas AST e GGT têm atividade plasmática aumentada, sugerindo dano hepático (GONZÁLEZ et al., 2006). Segundo GERLOFF (1986), em casos

avançados de lipidose hepática, os níveis de AST estão geralmente aumentados. A relação entre altas concentrações de triglicerídeos hepáticos e teores aumentados de AST ocorre quando há severo comprometimento dos hepatócitos. STOJEVIĆ et al. (2005) encontraram, em vacas de raça Holandesa, valor máximo de AST de 85 U/L. NORO et al. (2013) estudaram a atividade plasmática da AST em vacas leiteiras no Chile e concluíram que o ponto de corte para o diagnóstico de danos hepáticos é de ≥ 110 U/L.

As concentrações de AGNE plasmáticos podem apresentar variação dentro do dia, decorrente do tempo entre a ingestão de alimento e da coleta do soro e de condições ambientais alheias ao balanço de energia, como é o caso do estresse, limitando assim a sensibilidade interpretativa. Além do mais, existem limitações de ordem prática e econômica no manejo da amostra, bem como na metodologia analítica disponível atualmente. A concentração dos teores de corpos cetônicos sofre variações induzidas pela alimentação, idade, raça (ANDERSSON, 1988), número de lactações (RADOSTITS et al., 2000) e estação do ano (TVEIT et al., 1992).

## 3.5.3 Indicadores do perfil proteico

Para a determinação de status proteico de um rebanho leiteiro devem ser medidas a ureia, a albumina, as globulinas, a hemoglobina e as proteínas totais (PAYNE, 1987).

No bovino, de 60% a 80% da proteína da dieta é transformada em amônia no rúmen, que é utilizada pelos microrganismos ruminais para a síntese de suas proteínas estruturais, sendo o excedente de amônia absorvido através da parede ruminal para a circulação geral (WITTWER, 2000). A amônia absorvida chega ao fígado via sanguínea, onde é transformada em ureia, a qual se excreta, uma parte por via renal e uma fração volta ao rúmen através da saliva, ou por difusão da parede ruminal reintegrando-se ao ciclo (KOZLOSKI, 2011). A síntese de ureia pelo fígado demanda gasto energético, de forma que para cada 1 mol de ureia produzida podem ser gastos até 4 moléculas de ATP. Assim, um aumento da atividade ureogênica pode alterar a eficiência energética por demanda de intermediários gliconeogênicos e pelo aumento do gasto energético (OVERTON et al., 1999). A concentração sanguínea de ureia está em

relação direta com o aporte proteico da ração, bem como da relação energia:proteína. Valores baixos de ureia no sangue dos animais são encontrados em rebanhos que utilizam dietas deficitárias em proteínas e valores altos naqueles que utilizam dietas com excessivo aporte proteico ou com déficit de energia. Portanto, conclui-se que tanto o excesso de compostos nitrogenados como a deficiência de energia na dieta acarreta aumento dos níveis de ureia que indicam desequilíbrio no status energético das vacas (HRISTOV & ROPP, 2003). A ureia sanguínea, por seu baixo peso molecular, atravessa o epitélio alveolar da glândula mamária difundindo-se no leite, existindo uma alta correlação entre as concentrações de ureia no sangue e no leite de uma vaca (WITWER, 2000; CISZUK & GEBREGZIABHER, 1994).

Os níveis de ureia no sangue ou leite podem indicam a qualidade e quantidade de proteína e energia fornecida na dieta. São considerados aceitáveis quando os níveis de ureia no leite encontra-se entre 2,5 a 7,0 mmol/L ou 14,97 a 41,92 mg/dL (NORO et al., 2003).

As proteínas plasmáticas são constituídas de polímeros de vinte e dois aminoácidos ligados linearmente por pontes peptídicas, apresentando funções específicas ao tecido de sua síntese (SWENSON, 1988). Apenas a determinação da proteína sérica total não reflete com precisão o estado do metabolismo proteico, sendo de particular importância a determinação da albumina e das globulinas (COLES, 1984).

A albumina pode ser um indicador do conteúdo de proteína na alimentação, apesar de que suas mudanças no sangue ocorram num período de pelo menos um mês, devido à meia-vida desta proteína no plasma (PAYNE et al., 1987). A albumina é a proteína mais abundante no plasma sanguíneo, correspondendo aproximadamente a 50% das proteínas circulantes, é sintetizada no fígado e sua concentração pode ser modificada pelo aporte de proteína na ração. Entretanto, o que determina em maior medida os valores de sua concentração sanguínea é a capacidade do fígado de sintetizála. Seus níveis no soro dos bovinos normais está entre 24 a 35 g/L (CONTRERAS, 2000).

## 3.5.4 Indicadores do perfil mineral

O tecido animal possui elementos inorgânicos que se encontram em uma proporção de 2 a 5% do peso total dos animais. Estes elementos possuem funções essenciais tanto na estrutura de tecidos e biomoléculas, como no próprio metabolismo animal, participando como cofatores enzimáticos, ativadores da ação hormonal, e como responsável pela pressão osmótica e pelo equilíbrio ácido-base. As deficiências minerais podem ser estudadas a partir das análises de solo e da forrageira. Porém, devido às variações na disponibilidade e às interferências dos diferentes minerais, o diagnóstico deve ser abordado a partir de fluidos, principalmente sangue e urina, para se obter uma ideia mais aproximada do balanço metabólico de um determinado mineral (GONZÁLEZ, 2000).

O cálcio está intimamente ligado à composição do leite, e nas vacas leiteiras de alta produção, a necessidade de cálcio ultrapassa muitas vezes os níveis encontrados no sangue. O cálcio e em menor grau, o fósforo possuem um severo controle endócrino que permite a homeostasia diante dos desequilíbrios entre ingestão e a demanda desses minerais. O paratormônio (PTH) é o principal hormônio que atua na regulação do cálcio sanguíneo. Os órgãos alvos do PTH são os túbulos renais e o osso. Os efeitos biológicos imediatos do PTH são elevar o nível de cálcio e diminuir o nível de fósforo no sangue. O PTH também atua aumentando a formação de 1,25-di-hidroxi-colecalciferol (DHC) no rim mediante a estimulação da enzima 1-alfa-hidroxilase, localizada nas mitocôndrias das células epiteliais dos túbulos contornados proximais, aumentando a mobilização de cálcio do osso e a absorção de cálcio e fósforo em nível gastrointestinal (GONZÁLEZ et al., 2006; GOFF, 2008).

Uma vaca adulta possui aproximadamente 6.000 g de cálcio, 90% armazenados nos ossos, cerca de 1% (60 g) estão no sangue e nos tecidos moles, sendo que na corrente circulatória há cerca de 8 g. Vacas que produzem 30 kg de leite perdem diariamente cerca de 36 g de cálcio, isto é, mais de 4 vezes a quantidade sanguínea (GONZÁLEZ, 2000). Para produzir 10 kg de colostro no dia do parto, são necessários 23 g de cálcio. Os mecanismos de adaptação metabólica para manter a demanda em vacas leiteiras de alta produção não são rápidos o suficiente e precisam de cerca de 1 a 2 dias para maximizar a absorção de cálcio a partir do trato gastrointestinal e através da mobilização óssea para atender a demanda da glândula mamária. Consequentemente,

quase todas as vacas experimentam algum grau de hipocalcemia durante os primeiros dias após o parto, sendo que os níveis de cálcio tende a retornar ao normal dentro de 2 a 3 dias (JAWOR et al., 2012).

Estratégias nutricionais têm sido utilizadas para prevenção de hipocalcemia, incluindo restrição de cálcio durante o período pré-parto e diminuição da diferença cátion-aniônica da dieta durante as últimas 3 a 4 semanas de gestação (BLOCK, 1984).

Os principais cátions presentes na dieta são o potássio, o sódio, o cálcio e o magnésio e os ânions cloro, sulfatos e fosfatos. Uma dieta é considerada aniônica quando a soma dos cátions diminuído da soma dos ânions apresentar valor negativo [(K + Na + Ca + Mg) – (Cl + SO<sub>4</sub> + PO<sub>4</sub>)]. Entre os cátions, atenção especial deve ser dada ao magnésio, pois deficiência de magnésio reduz a secreção de paratormônio em resposta a hipocalcemia e reduz a sensibilidade dos receptores de paratormônio. Concentrações de magnésio menores de 0,65 mmol/L no período periparto aumentam a susceptibilidade a hipocalcemia (GOFF, 2008).

As concentrações plasmáticas de cálcio em vacas saudáveis na metade da lactação estão entre 2,0 a 2,8 mmol/L e nas vacas sem doença clínica na primeira semana após o parto os níveis estão entre 1,6 a 2,6 mmol/L (QUIROZ-ROCHA et al., 2009). A forma clínica da doença pode ser diagnosticada a partir dos sinais que se manifestam na forma de letargia, orelhas frias, fraqueza muscular e decúbito. A forma subclínica é de difícil diagnóstico e somente a avaliação dos níveis de cálcio podem indicar a ocorrência da doença. DUFFIELD et al. (2005) propuseram um ponto de corte para a determinação da hipocalcemia subclínica como sendo ≤ 1,8 mmol/L de cálcio no soro de vacas na primeira semana após o parto. GOFF (2007) atribui valores de cálcio para vacas adultas e normocalcêmicas entre 2,1 a 2,5 mmol/L, sendo que níveis de cálcio < 2 mmol/L entre 12 a 24 horas após o parto revelam incidência de 25% de hipocalcemia em novilhas e cerca de 50% de hipocalcemia em vacas adultas. OETZEL (2004), sugere que níveis de cálcio a baixo de 2 mmol/L é indicador de hipocalcemia subclínica.

A incidência de hipocalcemia em vacas leiteiras pode variar entre 5 a 10% na sua forma clínica, e 50% em sua forma subclínica, causando perdas de até 14% na produção de leite na forma clínica e diminuindo cerca de 3 a 4 anos a vida produtiva da vaca (CORRÊA et al., 2010).

A hipocalcemia, tanto na sua manifestação clínica como subclínica, reduz a plena capacidade produtiva das vacas e predispõe a doenças secundárias, aumentando os riscos de deslocamento de abomaso, devido à diminuição na motilidade gastrointestinal, reduz a ingestão de matéria seca aumentando as chances de ocorrer balaço energético negativo com consequente mobilização de gordura corporal, cetose e lipidose hepática. A hipocalcemia reduz a contração muscular, incluindo o músculo do esfíncter da teta responsável pelo fechamento do teto após a ordenha, aumentando assim o risco de mastite. Mais recentemente, estudos têm demonstrado que a hipocalcemia compromete o estímulo da resposta imune celular (KIMURA et al., 2006).

O cálcio participa na manutenção dos níveis de glicose no plasma sanguíneo, destacando o efeito depressor da hipocalcemia na produção de glicose endógena quando associado à hipercetonemia, sendo assim a hipocalcemia leva ao agravamento do balanço energético negativo (CORRÊA et al., 2010).

CHAMBERLIN et al. (2013) encontraram relação entre a hipocalcemia subclínica e alterações no metabolismo lipídico, pois vacas hipocalcêmicas apresentaram aumento dos níveis plasmáticos de AGNE e depósito de gordura no fígado. Os mesmos autores não encontraram diferenças entre vacas hipocalcêmicas e normocalcêmicas quanto a produção de leite, percentuais de gordura e sólidos não gordurosos, contagem de células somáticas e doenças no pós-parto como cetose, deslocamento de abomaso, mastites, distocias, retenção de membranas fetais e metrites.

O fósforo representa quase a metade dos níveis de cálcio no organismo animal. Aproximadamente 85% do fósforo estão no esqueleto, como fosfato inorgânico. A relação cálcio:fósforo nos ossos é de 2:1, a relação de cálcio:fósforo nos alimentos deve ser de 2:1 para que ocorra perfeita absorção destes minerais. No leite esta relação encontra-se em 1:1, o que significa que nas vacas leiteiras, principalmente no início da lactação e em vacas de alta produção há tendência a uma deficiência de fósforo, o que pode ser superado mediante a suplementação com concentrados ricos em fósforo (GONZÁLEZ et al., 2006). O excesso de suplementação com cálcio e fósforo pode causar diminuição da absorção intestinal de outros minerais: magnésio, zinco, manganês e cobre. A manutenção dos níveis de fósforo do sangue é governada pelos mesmos fatores que promovem a assimilação do cálcio. Porém, as interpretações do perfil dos dois minerais indicam diferentes problemas. Por outro lado, o controle da concentração

de cálcio via endócrino é mais rigorosa e o nível de fósforo inorgânico no plasma sanguíneo dos bovinos, geralmente oscila bem mais que o nível de cálcio (GONZÁLEZ et al., 2000).

A hipofosfatemia clínica é diagnosticada quando os níveis de fósforo no soro estão abaixo de 1,3 mmol/L no período peri-parto. Estudos retrospectivos têm correlacionado lesões hepáticas e diminuição das funções hepáticas com baixos níveis de fósforo (GRÜNBERG et al., 2005). Bovinos em decúbito com níveis normais de cálcio e níveis de fósforo abaixo de 0,32 mmol/L são diagnosticadas como quadros graves de hipofosfatemia (CORRÊA et al., 2010).

As vacas no período pré-parto são beneficiadas quando recebem menores concentrações de fósforo na dieta. PETERSON et al. (2005) estudaram os efeitos de três doses de fósforo sobre os níveis de cálcio sanguíneo em vacas pré-parto. As vacas que receberam 0,21% e 0,31% de fósforo na matéria seca apresentaram menor probabilidade de desenvolver hipocalcemia quando comparadas com vacas que receberam 0,44% de fósforo. BARTON et al. (1987) também relataram maior concentrações de cálcio plasmático, 3 a 5 dias pós-parto, em vacas alimentadas com 0,7 vezes a necessidade de manutenção de fósforo (NRC, 1978) em comparação com vacas alimentadas com 1 ou 3 vezes a exigência de manutenção de fósforo. KICHURA (1982) concluiu que em dietas contendo excesso de fósforo ocorre o bloqueio da síntese de 1,25-hidroxi-colecalciferol aumentando as chances de hipocalcemia.

O magnésio encontra-se 70% depositado no osso, o restante 29% localizam-se nos tecidos macios, e 1% nos fluidos corporais. Isto significa que um bovino adulto apresenta 2 g de magnésio disponível de forma imediata. O magnésio é absorvido no rúmen por mecanismos ativos de transporte, e a sua absorção é interferida por altos teores de potássio, nitrogênio e ácidos graxos orgânicos. Como o metabolismo do osso não participa de forma efetiva na homeostasia do magnésio, o animal depende mais do magnésio da dieta, e o organismo utiliza o rim para controlar os níveis sanguíneos. O excesso de magnésio é excretado pela urina, de forma que os níveis urinários e os níveis sanguíneos são bons indicadores do equilíbrio entre o gasto e a ingestão de magnésio. A concentração plasmática normal de magnésio está entre 0,75 a 1,23 mmol/L (GONZÁLEZ et al., 2006; GOFF, 2008).

50

A hipomagnesemia ocorre quando os níveis séricos encontram-se abaixo de 0,70

mmol/L e os sinais clínicos iniciam em concentrações abaixo de 0,40 mmol/L. É

aconselhável realizar monitoramento dos níveis de magnésio ao longo do ano para

prevenir hipomagnesemia. As vacas leiteiras são mais sensíveis à deficiência de

magnésio devido às exigências produtivas, uma vez que a suscetibilidade acentua-se à

medida que os animais avançam a idade, e enfrentam uma dificuldade progressiva em

mobilizar o mineral dos ossos, além da redução na capacidade de absorção (CORRÊA

et al., 2010).

hipomagnesemia está relacionada com manifestações clínicas

hiperexcitabilidade, retenção de placenta, alterações na digestão ruminal e diminuição

da produção de leite. Também predispõe à apresentação de hipocalcemia em vacas após

o parto, devido a que níveis baixos de magnésio, menores que 0,82 mmol/L, reduzem

drasticamente a capacidade de mobilização das reservas de cálcio do osso. O magnésio

está mais disponível em pastagens secas e em concentrados do que em pastagens

frescas. Pastagens jovens com altos níveis de potássio inibem a absorção de magnésio

(GONZÁLEZ et al., 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e a discussão estão apresentados no formato de artigos científicos.

Cada artigo foi redigido e formatado de acordo com as normas técnicas das revistas às

quais serão submetidos. Cada subtítulo corresponde a um artigo.

**ARTIGO 1** 

Variação da produção e composição do leite em vacas Holandesas no sul do Brasil:

estudo retrospectivo

Variation in milk yield and composition of Holstein cows in southern Brazil: a

retrospective study

Submetido a: Semina: Ciências Agrárias, ISSN 1676-546X

#### Resumo

O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos do ano, das estações do ano, das etapas da lactação e do número de lactação sobre as variáveis produção e composição do leite de vacas da raça Holandesa no estado do Rio Grande do Sul, sul do Brasil. Foram utilizados os registros do gerenciamento leiteiro de 115 propriedades no período de janeiro de 2008 a dezembro de 2013 para obtenção das informações da produção, gordura, proteína, lactose, sólidos totais, escore de células somáticas e o cociente gordura:proteína. A produção média no período de 6 anos foi de 25,5 ± 8,63 L/vaca/dia. O inverno foi a estação do ano com a maior produção de leite e os maiores teores de proteína, lactose e sólidos totais. O teor de gordura láctea foi maior no outono, em vacas no final da lactação e naquelas de primeiro parto. Vacas entre 6 a 60 dias em lactação, assim como aquelas de segunda ou terceira lactação, apresentaram as maiores produções de leite. A lactose correlacionou-se positivamente com a produção de leite. O escore de células somáticas apresentou correlação negativa com a produção e o teor de lactose. Apesar do aumento na produção de leite, a sanidade da glândula mamária constitui um desafio a ser superado.

**Palavras-Chave:** Componentes do leite; Número de partos; Estações do ano, Fase da lactação.

#### **Abstract**

The aim of the study was to evaluate the effects of year, seasons of the year, stages of lactation, and lactation number on variations in milk yield and composition of Holstein cows in the state of Rio Grande do Sul, southern Brazil. Dairy management data on the concentrations of milk fat, protein, lactose, and total solids, on somatic cell score, and on the fat to protein ratio obtained from 115 farms from January 2008 to December 2013 were used to determine milk yield. The milk yield in a 6-year period averaged  $25.5 \pm 8.63$  L/cow/day. Winter was the season with the highest milk yield and the highest protein, lactose, and total solids concentrations. Milk fat was larger in fall in cows in late lactation and also in primiparous cows. Lactating cows from 6 to 60 days in lactation and those in  $2^{\rm nd}$  or  $3^{\rm rd}$  lactation showed the highest milk yield. Lactose concentration was positively correlated with milk yield. The somatic cell score was negatively correlated with milk yield and lactose concentration. Despite the increase in milk yield in the region, mammary gland health is a biggest challenge to be overcome.

**Keywords:** Milk components; Parity; Seasons of the year; Stage of lactation.

#### Introduction

Even though Brazilian dairy production has increased by 57.5% in the past 11 years, there has been a historical trade balance deficit. The better purchasing power of the Brazilian population has contributed to higher consumption and to the maintenance of attractive prices to farmers, encouraging the growth of the dairy sector in Brazil (MONTOYA et al., 2014).

According to the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE 2013), the state of Rio Grande do Sul (RS) ranks second in milk production, outrivaled only by Minas Gerais, and occupies the first position in productivity across Brazilian states. In 2012, milk yield in RS averaged 2,670 L/cow/year, way above the Brazilian average (1,417 L/cow/year). According to Montoya et al. (2014), between 2001 and 2012, milk yield in RS rose 82.24%, the number of milked cows increased 25.9%, and productivity went up 44.7%, thus indicating the qualification of dairy farmers in this state.

Both milk volume and milk composition (fat, protein, lactose, total solids, and somatic cell count) play an important role, as they serve as a point of reference for the estimation of quality and for the price paid for the raw material (DÜRR, 2004). The importance of milk components for industrialization was described by Fonseca and Santos (2000), who demonstrated that 0.5% of total solids means 5 tons of powder milk for every one million liters of processed milk.

It is paramount that a database containing individual and regular information on yield, milk composition, somatic cell count (SCC) and lactation-related events be maintained in order to determine the causes and consequences for milk yield and composition. These milk recording programs are broadly known and used worldwide, helping with dairy farm decisions and good practices, thus contributing to the maintenance and improvement of production traits (DÜRR et al., 2011). Therefore, milk recording data are crucial for ensuring the quality and self-sufficiency of milk production, providing subsidies for herd management.

The aim of the present study was to assess variations in milk yield and composition in Holstein cows in the state of Rio Grande do Sul, southern Brazil, between 2008 and 2013.

#### Materials and methods

Location. The study was carried out in the state of Rio Grande do Sul, southern Brazil, using information about 115 herds from the northern and northwestern regions of the state, taking into account dairy herd management data obtained by the Division of Dairy Herd Analyses of Universidade de Passo Fundo (SARLE-UPF).

Study design, samples, and analysis. A total of 187,796 individual data on Holstein cows were collected for the period between January 2008 and December 2013. Milk recording consisted of monthly collections of individual data on all lactating cows and lactation-related events, in addition to the sampling of milk produced within a 24-hour time frame. Daily milk yield was measured in L/cow/day and recorded onto a spreadsheet previously handed out by SARLE. Milk samples were collected in 40-mL flasks containing bronopol, preserved at room temperature until they were sent to SARLE, where they were kept under refrigeration at 5°C until analysis, which took place within 48 h after collection.

The following variables were analyzed: milk yield, milk composition (fat, protein, lactose, and total solids), SCC, and fat to protein ratio (F:P ratio). The data on each animal were classified by stage of lactation, year, and lactation number. The stage of lactation was classified into four categories according to days in milk (DIM): 6 to 60, 61 to 120, 121 to 220, and over 220 DIM, excluding those cows with DIM between 0 and 5. The season of the year was classified as follows: summer (December 22 to March 21), fall (March 22 to June 21), winter (June 22 to September 21) and spring (September 22 to December 21). Parity was classified as follows: 1 for primiparous cows; 2-3 for cows that calved twice and three times; and  $\geq$  4 for multiparous cows (4 or more calvings).

Milk composition was analyzed by an automated near-infrared spectroscope (Bentley 2000, Bentley Instruments). Somatic cells were counted by flow cytometry (Somacount 300, Bentley Instruments).

Statistical analysis. Frequency distribution was used, with the following data: fat  $\geq 2$  and  $\leq 5\%$ ; protein  $\geq 2$  and  $\leq 5\%$ ; lactose  $\geq 3.5$  and  $\leq 5.6\%$ ; total solids  $\geq 9.5$  and  $\leq 16.1\%$ ; and milk yield greater than or equal to 8 L/cow/day. SCC was expressed as a log-transformed somatic cell score (SCS). After the elimination of incorrect information, 148,604 data were included.

The statistical analysis was performed by the IBM SPSS 19.0 software. The variables were analyzed for normality and homoskedasticity. Milk yield and composition data

were analyzed by ANOVA for linear model fits taking the following effects into consideration: year, season of the year, stage of lactation, and lactation number, (Yi =  $\mu$  + Ai+ Ej + Lk+ Nl+  $\epsilon$ i, where: Yi = calculated effect,  $\mu$  = mean, Ai = effect of the year, Ej= effect of the season of the year; L= effect of the stage of lactation; N= effect of lactation number, and  $\epsilon$ ij = error). The means were compared by Tukey's test. Differences were regarded as significant when P< 0.05. Milk yield, parity, days in milk, and milk composition were correlated using linear regression and Pearson's correlation coefficient.

## **Results**

Table 1 shows the means (± SD) for milk yield, milk composition, SCS, and F:P ratio from 2008 to 2013.

Effect of the year. Between 2008 and 2010, milk yield decreased, followed by an SCS increase (Table 2). Milk yield gradually increased by 8.20% between 2010 and 2013 whereas the SCS significantly declined in the same period. Fat and total solids concentrations gradually increased between 2008 and 2013, with no differences between themselves from 2008 to 2009. Fat and total solids concentrations were largest in 2010, without any differences between them in 2011 and 2012, being, actually, higher than in the previous years. The largest fat and total solids concentrations were observed in 2013. Protein content showed an uptrend between 2008 and 2013. The F:P ratio was highest in 2011 and 2013. No differences in protein content were detected in 2009 and 2012, but their concentrations in those years were higher than in 2008. The smallest F:P ratio was recorded in 2010. Lactose levels were higher in 2013. No difference was observed in lactose concentrations in 2010, 2011 and 2012, while the lowest lactose concentrations were observed in 2008 and 2009, respectively.

Effect of the season of the year. Milk yield was higher in winter, decreasing gradually in spring, fall, and summer (Table 3). Fat content was larger in fall, followed by winter, spring, and summer. Protein content was larger in winter and fall, decreasing in summer and spring, respectively. Fall, followed by spring, winter, and summer, was the season of the year with the highest F:P ratio. The SCS was higher in summer and fall, followed by winter, and the lowest SCS was observed in spring. Lactose concentration showed the same trend as milk yield, increasing in winter and gradually decreasing in spring, fall, and summer.

Effect of the stage of lactation. Cows in early lactation (6 to 60 DIM) had the highest milk yields, which decreased as lactation progressed (Table 4). The largest fat content was observed in cows with over 220 DIM, while the smallest fat content was detected in 6 to 60 and 61 to 120 DIM, without any differences between them. Milk protein increased as lactation progressed, being higher in cows with over 220 DIM, and lower in cows between 61 and 120 DIM. The F:P ratio gradually increased as lactation advanced. Lactose concentration was higher in cows between 61 and 120 DIM, decreasing between 6 and 60 DIM, 121 and 220 DIM, and over 220 DIM. Total solids showed the same trend as milk protein, increasing as lactation progressed, being higher in cows with over 220 DIM, and lower in cows between 61 and 120 DIM. The SCS had an opposite behavior to that of milk yield, increasing as lactation advanced.

Effect of lactation number. Lactation number influenced milk yield (Table 5); so, cows in second and third lactations had the highest yield, followed by cows in fourth or more lactations. Cows in first lactation had the lowest yields. Fat, protein, lactose, and total solids concentrations decreased as lactation number increased. The F:P ratio was higher in first-lactation cows followed by cows with more than four lactations, and two and three lactations, respectively. The SCS increased with lactation number.

Correlation analysis. Milk yield was positively correlated with lactose, with the F:P ratio, and with parity; and negatively correlated with fat, protein, total solids, SCS, and stage of lactation (Table 6). Milk fat was positively correlated with protein, total solids, SCS, and stage of lactation; and negatively correlated with milk yield, lactose, and parity. Protein content was positively correlated with fat, total solids, SCS, stage of lactation, and lactation number; and negatively correlated with milk yield, lactose, F:P ratio, and parity. The F:P ratio was negatively correlated with SCS, parity, and stages of lactation. Lactose was negatively correlated with SCS, parity, and stages of lactation. Total solids were negatively correlated with parity.

## **Discussion**

Milk yield in herds submitted to milk recording in RS averaged  $25.54 \pm 8.63$  L/cow/day between January 2008 and December 2013, above the averages for Brazil (4.64 L/cow/day), taking into account 305-day lactations (MONTOYA et al., 2014). These differences in milk yield are related to nutritional balance, racial and genetic characteristics, as well as to environmental conditions (DÜRR et al., 2011).

Several studies on milk composition of dairy herds carried out for different Brazilian regions revealed similar findings to the ones observed in the present study. Ribas et al. (2004) found 3.69% of fat (F), 3.24% of protein (P), 4.55% of lactose (L) and 12.34% of total solids (TS) in raw milk collected from dairy farms in the states of Santa Catarina, Paraná, and São Paulo between January 1999 and November 2001. In Brazilian northeastern states, Ribeiro Neto et al. (2012) found F= 3.66%, P= 3.16%, L= 4.41%, TS= 12.10 and SCC= 564,950 sc/mL of milk. The concentrations of components of milk produced in Brazil are lower than those observed in New Zealand (F= 4.80%, P= 3.61% and L= 4.97%), Canada (F=4.68 and P= 3.35%), Germany (F= 4.19% and P= 3.42%), and France (F= 4.06% and P= 3.35%) (RIBAS et al. 2004). Studies conducted by Heck et al. (2009) attribute these variations to stage of lactation, nutrition, health status, genetic factors, and seasonal interferences.

## Effect of the year

Productivity, chemical composition, and SCS increased between 2010 and 2013, which can be explained by the relationship between milk price and cost of production factors. The purchasing price of raw milk in that period was historically higher compared to the production cost, rendering those investments that improved the productivity of cows attractive (MONTOYA et al., 2014). By comparing the findings of Noro et al. (2006) with the means obtained in the present study, milk yield grew by 24.07%, protein content went up 2.5% and the SCS increased by 1.78, whereas fat and lactose concentrations fell by 3.38% and 0.66%, respectively. Therefore, the increase in milk components does not indicate continuous improvements in the past years, as the findings of Noro et al. (2006) show milk with higher quality than in this study. According to Dürr et al. (2011), an increase in productivity results from a strategic planning in which milk recording is essential to rational herd management; however, it is necessary that milk recording be also used for improvements in milk quality, and not only for the increase in productivity. It should be noted that this could only be achieved by raising the awareness of dairy farmers and dairy industries.

# Effect of the seasons of the year

Winter was the season of the year in which milk yield and lactose concentration were highest, followed by spring, corroborating the findings of Noro et al. (2006), who attributed this increase to the better quality of forage grasses in these seasons of the year. Broderick (2003) perceived lactose concentration increased with a higher dietary energy content. Temperate forage grasses contain higher neutral detergent fiber (NDF)

in late fall and winter and in early spring in southern of Brazil and a higher soluble carbohydrate concentration than tropical forage grasses, influencing cows' productivity (FONTANELI et al., 2009).

The highest fat and protein contents were observed in fall and winter. However, in fall, unlike winter, milk yield was lower, even though solids concentrations did not differ from those detected in winter. A decrease in milk volume may increase solids concentration, especially fat and protein, owing to the concentration effect of milk (WEISS et al., 2002). Certainly, temperate forage grasses provide better nutritional balance, which partly explains the higher yield and the larger concentrations of fat, protein, lactose, and total solids in winter.

Heck et al. (2009) assessed the variations in milk composition in the Netherlands and concluded that such variations resulted from seasonal factors. Consonant with our study, fat content showed the largest variation, followed by protein content. Lactose was the component with the smallest variation. Heck et al. (2009) attribute the reduction in fat content during summer to a fresh grass-based diet, which concentrates trans unsaturated fatty acids compared to preserved foods fed to cows in winter in that country. Trans fatty acids interfere with the enzymatic activity of  $\Delta^9$  desaturase, in charge of the synthesis of short-chain and medium-chain fatty acids in the mammary gland, contributing to the *de novo* synthesis. In southern Brazil, cows are fed better-quality forages at the end of fall and winter. Unlike the findings of Heck et al. (2009), milk yield, fat, protein, lactose, and total solids concentrations increased in the season of the year in which cows are fed more digestible and nutritious forages. Thermal comfort also interferes with milk yield and composition. Lambertz et al. (2014) concluded that cows under thermal stress in summer reduce milk yield and fat and protein contents, and increase the SCS, which is consistent with the results obtained in the present study, in which fall and summer yielded the highest SCS.

## Effect of the stage of lactation

The largest milk volumes were detected between 6 and 60 DIM, gradually decreasing up until dry off. Auldist et al. (1998) detected lower lactose levels and, consequently, lower milk yield, with the increase of DIM.

Cows with over 220 DIM had the highest milk fat and protein levels. Schutz et al. (1990) assessed the effects across the stages of lactation and observed lower milk fat and protein up to 50 days postpartum with a later gradual increase, with largest values in late lactation.

The F:P ratio has been used as an indicator of body fat mobilization in cows with negative energy balance (NEB). As the increase in free fatty acids, produced by the adipose tissue, contributes to the increase in milk fat, it has been suggested that an F:P ratio greater than 1.25 in cows up to 60 DIM indicates moderate NEB (DE ROOS et al. 2007). In the present study, the F:P ratio for cows between 6 and 60 DIM corresponded to  $1.11 \pm 0.22$ , 25.72% of which had a ratio  $\geq 1.25$ . Cucunubo et al. (2013) and Duffield et al. (1997) found low specificity and sensitivity in the use of an F:P ratio of 1.25 as an indicator of NEB and/or ketosis. When the ratio was adjusted to  $\geq 1.50$ , yielding higher specificity and sensitivity, the percentage of cows with NEB and/or ketosis was equal to 5.15%.

## Effect of lactation number

Milk fat, protein, and lactose levels were higher in primiparous cows, similarly to the results obtained by Cunha et al. (2008). This increase may be attributed to a lower SCS and, consequently, to a smaller damage to milk-producing cells (AULDIST and HUBBLE 1998) and to lower productivity in comparison with multiparous cows, causing the concentration effect of milk (WEISS et al., 2002). The gradual increase in SCS, with greater length of the stage of lactation observed in the present study, is similar to that described by Bodoh et al. (1976) and Cunha et al. (2008). Schultz (1977) attributes this increase to the loss of milk-secreting epithelial cells and to the higher chance of infections in cows with more days in milk. In the present study, larger yields occurred in the second and third lactations, declining from the fourth lactation onward. The maximum milk yield of a cow occurs when its mammary gland is fully developed, which is observed in the third lactation of Holstein cows (SCHUTZ et al., 1990).

## Correlation analysis

Milk yield was positively correlated with lactose level and parity. According to Larson (1995), lactose increases milk osmolality and, consequently, the water uptake by alveolar cells, producing a higher yield. The increase in SCS had a negative impact on milk yield, lactose, and F:P ratio. Hagnestam-Nielsen et al. (2009) detected lower milk yield in primiparous and multiparous cows with a high SCS. Losses were estimated at 1.9 and 5.2% for primiparous and multiparous cows, respectively. The same authors found out the largest losses in milk yield occurred as lactation progressed, with the most negative regression coefficients between weeks 33 and 44, regardless of parity. These findings are consistent with those obtained in this study, which indicate that SCS

increases and milk yield declines as lactation advances and parity decreases. The reduction of lactose levels in cows with high SCS was also observed by Prada e Silva et al. (2000), according to whom 34% of lactose losses were caused by an increment in SCS.

The SCS was positively correlated with milk fat, protein, and solids, with DIM, and with parity, but was negatively correlated with milk yield. Schutz et al. (1990) and Cunha et al. (2008) found positive correlations between SCS and milk fat and protein levels. Miller et al. (1983) assessed milk yield per cow and Mitchell et al. (1986) analyzed bulk tank milk and observed an increase in fat content in milk with high SCC. According to Auldist and Hubble (1998), there is no consensus agreement in the literature concerning the increase in total protein in cows with a high SCC. Kitchen (1981) and Munro et al. (1984) advocate that the increase in serum protein in cows with subclinical mastitis is likely attributable to the increase in the vascular permeability produced by the inflammatory process. In our study, the correlation between SCS and lactose was equal to -0.429 (P< 0.01). Noro et al. (2006), in the state of Rio Grande do Sul, and Cunha et al. (2008), in the state of Minas Gerais, describe the same effects of SCS on milk yield and composition, indicating it must be a persistent problem that affects milk yield and quality.

Milk yield and composition on farms that use milk recording programs in southern Brazil have improved in the past few years. Note that seasonality does play a role, as the largest milk volume and total solids concentration were detected in winter. Cows in early lactation (6 to 60 DIM) and those with two and three calvings were the most productive. The biggest challenge to be overcome is the reduction of the number of somatic cells negatively correlated with milk yield and with lactose level.

#### References

AULDIST, M. J. and HUBBLE, I. B. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. *Australian Journal of Dairy Technology*, v. 53, p. 28-36, 1998.

AULDIST, M. J.; WALSH, B. J.; THOMPSON, N. A. Seasonal and lactational influences on bovine milk composition in New Zealand. *Journal of Dairy Research*, v. 65, p. 401-411, 1998.

BODOH, G. W.; BATTISTA, W. J.; SCHULTZ, L. H. Variation in somatic cell counts in dairy herd improvement milk samples. *Journal of Dairy Science*, v. 59, p. 1119-1123, 1976.

BRODERICK, G. A. Effects of varying protein and energy level on the production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 86, p. 1370-1381, 2003.

CUCUNUBO, L. G.; STRIEDER-BARBOZA, C.; WITTWER, F.; NORO, M. Diagnóstico de cetosis subclínica y balance energético negativo en vacas lecheras mediante el uso de muestras de sangre, orina y leche. *Revista Científica, FCV-LUZ*, v. 23, p. 111-119, 2013.

CUNHA, R. P. L.; MOLINA, L. R.; CARVALHO, A. U.; FACURY FILHO, E. J.; FERREIRA, P. M.; GENTILINI, M. B. Mastite subclínica e relação da contagem de células somáticas com número de lactações, produção e composição química do leite em vacas da raça Holandesa. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 60, p. 19-24, 2008.

DE ROOS, A. P.; VAN DEN BIJGAART, H. J.; HORLYK, J.; DE LONG, G. Screening for subclinical ketosis in dairy cattle by Fourier transform infrared spectrometry. *Journal of Dairy Science*, v. 90, p. 1761-1766, 2007.

DUFFIELD, T. F.; KELTON, D. F.; LESLIE, K. E.; LISSEMORE, K. D.; LUMSDEN, J. H., Use of test day milk fat and milk protein to detect subclinical ketosis in dairy cattle in Ontario. *Canadian Veterinary Journal*, v. 38, p. 713-718, 1997.

DÜRR, J. W. Programa nacional de melhoria da qualidade do leite: uma oportunidade única. In: DÜRR J. W.; CARVALHO M.P.; SANTOS, M.V. (eds.). *O compromisso com a qualidade do leite no Brasil*. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2004. p. 38-55.

DÜRR, J. W.; RIBAS, N. P.; COSTA, C. N.; HORST, J. A.; BONDAN, C. Milk recording as an indispensable procedure to assure milk quality. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 40, p. 76-81, 2011.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V., 2000. Qualidade do leite e controle da mastite, (Lemos Editorial, São Paulo)

FONTANELI, R. S.; SANTOS, H. P.; FONTANELI, R. S. Forrageiras para integração lavoura-pecuária-floresta na região sul-brasileira. Passo Fundo: Embrapa Trigo. 2009.

HAGNESTAM-NIELSEN, C.; EMANUELSON, U.; BERGLUND, B.; STRANDBERG, E. Relationship between somatic cell count and milk yield in different stages of lactation. *Journal of Dairy Science*, v. 92, p. 3124-3133, 2009.

HECK, J. M.; VAN VALENBERG, H. J. F.; DIJKSTRA, J.; VAN HOOIJDONK, A. C. M. Seasonal variation in the Dutch bovine raw milk composition. *Journal of Dairy Science*, v. 92, p. 4745-4755, 2009.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: http://www.sidra.ibge.gov.br. Acesso em: 22 jun. 2013

KITCHEN, B. J. Review of the progress of dairy science: bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. *Journal of Dairy Research*, v. 48, p. 167-188, 1981.

LAMBERTZ, C.; SANKER, C.; GAULY, M. Climatic effects on milk production traits and somatic cell score in lactating Holstein-Friesian cows in different housing systems. *Journal of Dairy Science*. v. 97, p. 319-329, 2014.

LARSON, B. L. Biosynthesis & cellular secretion of milk. In: LARSON, B. L. (ed), *Lactation*. Ames: Iowa State University Press. 1995. p. 129-163.

MILLER, R. H.; EMANUELSSON, U.; PERSSON, E.; BROLUND, L.; PHILIPSSON, J.; FUNKE, H. Relationships of milk somatic cell counts to daily milk yield and composition. *Acta Agriculturae Scandinavica*, v. 33, p. 209-223, 1983.

MITCHELL, G. E.; ROGERS, S. A.; HOULIHAN, D. B. The relationship between somatic cell count, composition and manufacturing properties of bulk milk. 2. Composition of farm bulk milk. *Australian Journal of Dairy Technology*, v. 41, p. 9-12, 1986.

MONTOYA, M. A.; PASQUAL, C. A.; FINAMORE, E. B. Panorama da produção leiteira no Rio Grande do Sul: perspectivas e gestão nas propriedades no Corede Produção. In: *Fontes de crescimento da produção de leite: um enfoque no Corede*. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, 2014. p. 25-38.

MUNRO, G. L.; GRIEVE, P. A.; KITCHEN, B. J. Effects of mastitis on milk yield, milk composition, processing properties and yield and quality of milk products. *Australian Journal of Dairy Technology*, v. 39, p. 7-16, 1984.

NORO, G.; GONZÁLEZ, F. H. D.; CAMPOS, R.; DÜRR, J. W. Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 35, p. 1129-1135, 2006.

PRADA E SILVA, L. F.; PEREIRA, A. R.; MACHADO, P. F., SARRIÉS, G. A. Effects of somatic cell levels on milk components II-lactose and total solids. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 37, p. 330-333, 2000.

RIBAS, N. P.; HARTMANN, W.; MONARDES, H. G.; ANDRADE, U. V. C de. Sólidos totais do leite em amostras de tanque nos estados do Paraná, Santa Catarina e São Paulo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 33, p. 2343-2350, 2004.

RIBEIRO NETO, A. C.; BARBOSA, S. B. P.; JATOBÁ, R. B.; SILVA, A. M.; SILVA, C. X.; SILVA, M. J. A.; SANTORO, K. R. Qualidade do leite cru refrigerado sob inspeção federal na região Nordeste. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 64, p. 1343-1351, 2012.

SCHULTZ, L. H. Somatic cells in milk physiological aspects and relationship to amount and composition of milk. *Journal of Food Protection*, v. 40, p. 125-131, 1977.

SCHUTZ, M. M.; HANSEN, L. B.; STEUERNAGEL, G. R. Variation of milk, fat, protein and somatic cells for dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v. 73, p. 484-493, 1990.

WEISS, D.; HILGER, M.; MEYER, H. H. D.; BRUCKMAIER, R. M. Variable milking intervals and milk composition. *Milchwissenschaft*, v. 57, p. 246-249, 2002.

Table 1. Mean ( $\pm$  standard deviation), median, and percentiles of milk yield, chemical composition, somatic cell score (SCS) and fat to protein (F:P) ratio of Holstein cows from southern Brazil (N= 148,604).

	Yield				Total solids				
	(L/cow/day)	Fat (%)	Protein (%)	F:P	Lactose (%)	(%)	SCS#		
Yield L/cow/day	$25.5 \pm 8.63$	$3.45 \pm 0.67$	$3.23 \pm 0.38$	$1.07 \pm 0.2$	$4.45 \pm 0.25$	12.1 ± 0.98	5.22 ± 1.74		
Median	25.0	3.42	3.20	1.06	4.49	12.0	5.35		
25°%	19.2	2.96	2.96	0.94	4.31	11.4	4.33		
75°%	31.0	3.93	3.47	1.19	4.74	12.8	6.37		

<sup>#</sup> Somatic cell score: Log of somatic cell count.

Table 2. Annual means ( $\pm$  standard deviation) of milk yield, chemical composition, SCS, and F:P ratio between January 2008 and December 2013 in dairy herds from southern Brazil.

	Yield						
Year	(L/cow/day)	Fat (%)	Protein (%)	F:P*	Lactose (%)	Total solids (%)	SCS#
2008	$26.2 \pm 9.08^{b}$	$3.37 \pm 0.65^{d}$	$3.18 \pm 0.38^{d}$	$1.06 \pm 0.19^{d}$	$4.43 \pm 0.25^{c}$	$11.9 \pm 0.94^{d}$	$4.95 \pm 2.01^{\rm e}$
2009	$25.2 \pm 8.41^{d}$	$3.38 \pm 0.66^{d}$	$3.17 \pm 0.37^{e}$	$1.07 \pm 0.20^{c}$	$4.41 \pm 0.26^{d}$	$11.9 \pm 0.94^{d}$	$5.26 \pm 1.87^{b}$
2010	$24.6 \pm 8.14^{\text{f}}$	$3.40 \pm 0.68^{c}$	$3.23 \pm 0.35^{c}$	$1.05 \pm 0.20^{\rm e}$	$4.46 \pm 0.25^{b}$	$12.1 \pm 1.02^{c}$	$5.45 \pm 1.61^{a}$
2011	$25.0 \pm 8.21^{e}$	$3.50 \pm 0.67^{b}$	$3.26 \pm 0.37^{b}$	$1.07 \pm 0.19^{b}$	$4.46 \pm 0.25^{b}$	$12.2 \pm 1.01^{b}$	$5.30 \pm 1.61^{b}$
2012	$25.5 \pm 8.53^{c}$	$3.50 \pm 0.69^{b}$	$3.28 \pm 0.39^{a}$	$1.07 \pm 0.20^{c}$	$4.46 \pm 0.25^{b}$	$12.2 \pm 0.99^{b}$	$5.14 \pm 1.70^{d}$
2013	$26.8 \pm 8.63^{a}$	$3.52 \pm 0.67^{a}$	$3.24 \pm 0.38^{c}$	$1.09 \pm 0.19^{a}$	$4.49 \pm 0.25^{a}$	$12.2 \pm 0.95^{a}$	$5.19 \pm 1.58^{c}$

<sup>#</sup> Somatic cell score: Log of somatic cell count; \*F:P= fat to protein ratio;  $^{a, b, c, d, e}$  indicate differences between columns.

Table 3. Means (± standard deviation) of milk yield, chemical composition, SCS, and F:P ratio in different seasons of the year in dairy herds from southern Brazil.

Season of the	Yield						
year	(L/cow/day)	Fat (%)	Protein (%)	Lactose (%)	Total solids (%)	SCS#	F:P*
Winter	$27.3 \pm 9.16^{a}$	$3.48 \pm 0.69^{b}$	$3.27 \pm 0.36^{a}$	$4.48 \pm 0.25^{a}$	$12.2 \pm 0.98^{a}$	$5.20 \pm 1.71^{b}$	$1.07 \pm 0.20^{c}$
Spring	$25.8 \pm 8.68^{b}$	$3.40 \pm 0.66^{c}$	$3.17 \pm 0.36^{c}$	$4.46 \pm 0.25^{b}$	$12.0 \pm 0.98^{b}$	$5.16 \pm 1.78^{c}$	$1.07 \pm 0.19^{b}$
Summer	$24.2 \pm 7.8^{d}$	$3.37 \pm 0.65^{d}$	$3.18 \pm 0.35^{b}$	$4.42 \pm 0.25^{d}$	$11.9 \pm 0.95^{c}$	$5.27 \pm 1.78^{a}$	$1.06 \pm 0.20^{d}$
Fall	$24.4 \pm 8.48^{c}$	$3.53 \pm 0.68^{a}$	$3.28 \pm 0.88^{a}$	$4.43 \pm 0.26^{c}$	$12.2 \pm 0.98^{a}$	$5.26 \pm 1.69^{a}$	$1.08 \pm 0.20^{a}$

<sup>#</sup> Somatic cell score: Log of somatic cell count; \* F:P= fat to protein ratio; a,b,c,d indicate differences between columns.

Table 4. Means (± standard deviation) of milk yield, chemical composition, SCS, and F:P at different stages of lactation in dairy herds from southern Brazil.

Stage of lactation	Yield					Total solids	SCS#
(days)	(L/cow/day)	Fat (%)	Protein (%)	F:P*	Lactose (%)	(%)	
6 to 60	$29.4 \pm 8.72^{a}$	$3.40 \pm 0.65^{b}$	$3.05 \pm 0.36^{c}$	$1.11 \pm 0.22^{a}$	$4.50 \pm 0.23^{b}$	$11.9 \pm 0.93^{c}$	$4.79 \pm 1.90^{\rm d}$
61 to 120	$29.2 \pm 8.66^{b}$	$3.30 \pm 0.66^{c}$	$3.03 \pm 0.31^{d}$	$1.09 \pm 0.21^{b}$	$4.51 \pm 0.23^{a}$	$11.8 \pm 0.92^{d}$	$4.89 \pm 1.90^{\circ}$
121 to 220	$26.2 \pm 8.01^{c}$	$3.40 \pm 0.66^{b}$	$3.18 \pm 0.32^{b}$	$1.07 \pm 0.19^{c}$	$4.45 \pm 0.24^{c}$	$12.0 \pm 0.94^{b}$	$5.21 \pm 1.75^{b}$
> 220	$22.0 \pm 7.49^{d}$	$3.55 \pm 0.67^{a}$	$3.41 \pm 0.36^{a}$	$1.04 \pm 0.18^{d}$	$4.40 \pm 0.27^{d}$	$12.4 \pm 0.99^{a}$	$5.53 \pm 1.53^{a}$

<sup>#</sup> Somatic cell score: Log of somatic cell count; \* F:P=fat to protein ratio; a, b, c, d indicate differences between columns.

Table 5. Means (± standard deviation) of milk yield, chemical composition, SCS, and F:P ratio, according to lactation number in dairy herds from southern Brazil.

	Yield			Total				
Parity	(L/cow/day)	Fat (%)	Protein (%)	F:P*	Lactose (%)	solids (%)	SCS#	
1	23.9±7.72°	3.47±0.67 <sup>a</sup>	3.24±0.37 <sup>a</sup>	1.08±0.19 <sup>a</sup>	4.54±0.23 <sup>a</sup>	12.2±0.97 <sup>a</sup>	4.83±1.73°	
2-3	26.9±9.09 <sup>a</sup>	3.43±0.68 <sup>b</sup>	3.23±0.38 <sup>b</sup>	1.07±0.20 <sup>c</sup>	4.43±0.24 <sup>b</sup>	12.1±0.98 <sup>b</sup>	5.31±1.72 <sup>b</sup>	
≥ <b>4</b>	26.1±8.86 <sup>b</sup>	3.41±0.67°	3.19±0.37°	1.07±0.20 <sup>b</sup>	4.32±0.26 <sup>c</sup>	11.9±0.97 <sup>c</sup>	5.84±1.62 <sup>a</sup>	

<sup>#</sup> Somatic cell score: Log of somatic cell count; \* F:P=fat to protein ratio; a, b, c indicate differences between columns.

Table 6. Correlations between days in milk (DIM), parity, milk yield, and milk composition in dairy herds from southern Brazil.

					Protein		Lactose	
	DIM	Parity	Yield	Fat (%)	(%)	F:P##	(%)	Solids (%)
Yield	-0.341**	0.121**						
Fat (%)	0.125**	-0.038**	-0.226**					
Protein (%)	0.394**	-0.041**	-0.396**	0.400**				
F:P	-0.121**	-0.013**	0.012**					
Lactose (%)	-0.164**	-0.308**	0.200**	-0.042**	-0.085**	0.006*		
Solids (%)	0.220**	-0.131**	-0.279**	0.879**	0.700**	0.486**	0.208**	
SCS#	0.165**	0.214**	-0.158**	0.076**	0.174**	-0.028**	-0.429**	0.016**

<sup>\*\*</sup>correlation significant at 0.01

## F:P=fat to protein ratio

<sup>\*</sup> correlation significant at 0.05

<sup>#</sup> Log of somatic cell count

## **ARTIGO 2**

Ocorrência de transtornos clínicos e subclínicos no período de transição pós-parto em vacas leiteiras e seu impacto sobre a produção e a composição do leite

## **RESUMO**

O objetivo deste estudo foi determinar a ocorrência de transtornos clínicos e subclínicos no pós-parto em vacas leiteiras e avaliar seu impacto sobre a produção e a composição láctea. Foram utilizadas 119 vacas da raça Holandesa, monitoradas do parto até 62 dias no pósparto, pertencentes a duas fazendas do Planalto Médio do Rio Grande do Sul. Quinzenalmente foi avaliado o escore de condição corporal (ECC), e coletadas amostras de sangue e de leite, bem como informações sobre eventos clínicos. No leite foram determinados os percentuais de gordura, proteína e lactose, o cociente entre gordura e proteína e a contagem de células somáticas (CCS). No sangue foram determinados a enzima aspartato aminotransferase (AST), ácidos graxos não esterificados (AGNE), betahidroxibutirato (BHB), ureia, cálcio, fósforo e magnésio. A ocorrência de transtornos clínicos foi de 26,9%, distribuídos em 5,9% de mastite, 5,0% de deslocamento de abomaso, 4,2% de retenção de placenta, 4,2% de metrite, 3,4% de cetose e 4,2% das vacas apresentaram 2 ou mais transtornos clínicos. A ocorrência de transtornos subclínicos isolados foi de 53,8%, sendo 26,1% de hipocalcemia subclínica, 16% de cetose subclínica e 11,8% de hipocalcemia subclínica associada a cetose subclínica. A produção e a composição química de leite foram influenciadas por alguns dos transtornos clínicos e subclínicos.

Palavras-chave: indicadores sanguíneos; indicadores lácteos; produção de leite; composição láctea

# INTRODUÇÃO

A alta produção das vacas leiteiras exige demandas metabólicas desafiantes ao equilíbrio homeostático, que por vezes, resultam em alterações metabólicas e podem afetar a produção e as características físico-químicas do leite (GONZALEZ, 2003). As alterações na composição do leite são multifatoriais e podem ser devido ao desequilíbrio energético,

proteico ou mineral, sendo difíceis de diagnosticar (BARROS, 2001, 2004; SANTOS, 2004; ZANELA et al., 2006).

O período mais crítico para as vacas leiteiras é o período de transição, que corresponde às mudanças alimentares e metabólicas entre o período de final da gestação e o início da lactação (DRACKLEY, 1999). O fim da fase não-lactante e o início da lactante, juntamente com o estresse do parto, acarretam mudanças que afetam o consumo de alimentos e o metabolismo das vacas leiteiras (VASQUE-ANON et al., 1994).

Nas primeiras semanas do pós-parto as vacas de alta produção podem apresentar balanço energético negativo que repercute em lipomobilização, síntese de corpos cetônicos e risco de injúria hepática (BAUMAN & CURRIE, 1980). O manejo alimentar é crítico nesse período e as necessidades de produção obrigam ao uso de glicídios de rápida fermentação que devem estar em proporção adequada de fibra para evitar transtornos no metabolismo ruminal. Além disso, desequilíbrios energético-proteicos podem acarretar o aumento de ureia sanguínea e láctea, com consequências na fertilidade da vaca (LARSON et al., 1997; NORO & WITTWER, 2012).

A ocorrência de transtornos metabólicos no periparto de vacas leiteiras é extremamente relevante na produção, sendo que um transtorno predispõe a ocorrência de outro, ocasionando um efeito cascata e culminando na queda de desempenho produtivo. A exemplo disso, pode-se citar que a ocorrência de cetose subclínica na primeira ou segunda semanas após o parto aumenta o risco de ocorrência de DA, metrite, cetose clínica e endometrite (LEBLANC, 2010).

O perfil metabólico sanguíneo pode ser utilizado para avaliar o metabolismo proteico, energético, mineral e avaliar a função hepática (WITTWER, 1995). A composição bioquímica do sangue reflete de maneira confiável o equilíbrio entre o ingresso, o egresso e a metabolização dos nutrientes nos tecidos animais, tornando-se uma útil ferramenta no diagnóstico de transtornos metabólicos, principalmente nos estágios préclínicos ou subclínicos (GONZÁLEZ, 1997).

As informações da produtividade e da composição química do leite representam uma alternativa menos invasiva e de menor custo, quando comparada às análises do metabolismo sanguíneo. A composição do leite, principalmente a gordura e a proteína, tem sido utilizada para avaliar o *status* nutricional dos rebanhos (DUFFIELD et al., 1997; SPOHR & WIESNER, 1991). Assim, o cociente entre a gordura e proteína (G:P) tem sido empregado como indicador do grau de lipomobilização (MULLIGAN et al., 2006) e a

ureia láctea tem sido utilizada para avaliar o metabolismo proteico (HRISTOV & ROPP, 2003).

O presente estudo objetiva determinar a ocorrência de transtornos clínicos e subclínicos no pós-parto em vacas leiteiras e avaliar seu impacto sobre a produção e a composição láctea.

## MATERIAL E MÉTODOS

Animais e localização. Foram utilizadas 119 vacas da raça Holandesa, monitoradas desde o parto até 62 dias pós-parto. Os animais eram provenientes de duas fazendas leiteiras localizadas na região do Planalto Médio do Rio Grande do Sul: Fazenda 1 (F1) localizada nas coordenadas 28°10′49.67′′S 52°50′28.00′′O e 598 m de altitude, e Fazenda 2 (F2) a 28°06′34.80′′S 52°59′12.700′′O e 516 m de altitude. A coleta das informações foi realizada quinzenalmente no período entre 24 de abril a 26 de novembro de 2013.

Manejo e dieta. As duas fazendas manejavam os animais em sistema de semiconfinamento. A dieta foi balanceada para atender a produção leiteira de 40 kg/dia, 3,5% de gordura, 3,1% de proteína e 4,85% de lactose, durante os primeiros dois meses de lactação (NRC, 2001). As vacas receberam 26, 1 kg/MS/dia, constituída de pastagens de azevém (Lolium multiflorum), silagem de milho, feno de tifton, milho triturado, casca de soja, farelo de soja e minerais. A composição bromatológica das dietas foi a seguinte: 37,7% de fibra detergente neutro (FDN), 1,6 Mcal/dia de energia metabolizável (EM), e 20,64% de proteína bruta (PB). As concentrações de minerais e vitaminas na MS foram: 0,87% de Ca, 0,34% de P, 0,27% de Mg, 1,27% de K, 0,45% de Na, 0,43% de Cl, 0,22% de S, 9,4 ppm de Co, 9,4 ppm de Cu, 14 ppm de Fe, 0,56 ppm de I, 27 ppm de Mn, 0,35 ppm de Se, 54 ppm de Zn, 7,44 UI/kg de vitamina A, 0,74 UI/kg de vitamina D e 22,9 UI/kg de vitamina E. Parte da dieta foi distribuída por vagão *Total Mix* após cada ordenha, em galpões cobertos, com as vacas contidas em canzis. O restante da dieta foi ofertado em pastejo de azevém. A água estava disponível ad libitum nos galpões de alimentação, nos piquetes de pastoreio e na sala de espera e saída da ordenha. Ainda, os animais dispunham de sombreamento nos corredores de acesso aos piquetes.

**Manejo de ordenha.** As duas fazendas possuíam sistema de três ordenhas diárias (06:00, 14:00 e 21:00), sendo que a fazenda F1 ordenhava 146 vacas e a F2 169 vacas. Ambas,

possuíam equipamento automático de ordenha (Gea Farm Technologies) com sistema canalizado, linha baixa, contenção em formato espinha de peixe duplo 6, com sistema de corte de vácuo e extração automática das teteiras. Os equipamentos de ordenha possuíam dispositivo para amostragem individual do leite.

Dados de controle leiteiro. O controle leiteiro consistiu de informações sanitárias e, a partir do dia 6 pós-parto, de dados de volume de produção e de composição do leite. Para análise da composição foram coletados 14 mL de leite em cada uma das ordenhas do dia. As amostras foram acondicionadas em frascos com bronopol e mantidas a temperatura de 8°C até à análise. A análise foi realizada no dia posterior à coleta, empregando um sistema combinado (Delta Instruments) que determina a contagem de células somáticas (CCS) por citometria de fluxo (SomatoScop CA3A5) e a composição química do leite (gordura, proteína, lactose e ureia) através de espectrofotometria do infravermelho próximo (LactoScop FT 10).

**Condição corporal.** A determinação da condição corporal (CC) realizou-se mediante as técnicas visuais e de inspeção da garupa (pelve e inserção da cauda), costelas e lombo, classificando-se em escala de 1 a 5 (Edmonson et al., 1989).

Amostras de sangue. As amostras de sangue foram obtidas a partir de 15 dias antes do parto até 62 dias pós-parto. As coletas ocorreram logo após a ordenha da manhã, mediante amostra de sangue (8 mL) da veia coccígea em tubos a vácuo sem anticoagulante (Vacutainer, BD). O sangue foi armazenado em caixas isotérmicas (8°C) e após 12 horas as amostras foram centrifugadas a 3.000 g por 10 minutos. As alíquotas de soro foram acondicionadas em microtubos de 1,5 mL, identificadas e congeladas a -20 °C até à análise. As amostras foram processadas em equipamento automatizado (Wiener Lab CM200). Foi utilizado método colorimétrico para as análises de albumina, ureia, aspartato aminotransferase (AST), Ca, P e Mg (kits Labtest, Brasil), assim como para análises de beta-hidroxibutirato (BHB) e ácidos graxos não esterificados (AGNE) (kits Randox, Irlanda). A determinação das concentrações séricas de AGNE foi realizada até os 42 dias de lactação.

Diagnóstico de doenças clínicas. As doenças clínicas foram diagnosticadas através de sinais clínicos que evidenciassem a doença (RADOSTITS et al., 2000). A retenção de placenta (RP) foi diagnosticada através da presença dos envoltórios pendentes na vulva, a metrite através de exame ginecológico com evidências de conteúdo no canal vaginal e útero, o deslocamento de abomaso (DA) foi identificado pela redução brusca na produção de leite e do apetite, associado à auscultação e percussão, a mastite identificada pelo edema e dor na glândula mamária e pela alteração visual do leite com presença de grumos e a cetose foi determinada pela diminuição na produção de leite e na ingestão de alimentos acompanhado de odor cetônico durante a respiração. A cetose também foi considerada clínica quando a concentração sérica de BHB foi superior a 2,6 mmol/L (DUFFIELD, 2000).

**Diagnóstico de doenças subclínicas.** A hipocalcemia subclínica foi considerada quando o cálcio sérico foi inferior a 2,0 mmol/L (GOFF, 2008). O diagnóstico da cetose subclínica foi realizado quando o BHB sérico foi superior a 1,2 mmol/L (CARRIER et al., 2004).

Análise estatística. Os dados foram analisados utilizando o programa IBM SPSS v. 19.0. As variáveis foram analisadas para normalidade e homocedasticidade. Os dados foram analisados por um modelo lineal de análise de variância considerando separadamente o período de transição pré-parto (-15 dias até o parto), período de transição pós-parto (6 a 21 DEL), 4ª a 6ª semana pós-parto (22 a 42) e 7ª a 9ª semana pós-parto (43 a 62 DEL) com o seguinte modelo (Yijk = μ + Di+ NLj+ Fk + εijk, onde: Yi = efeito calculado, μ = média, Di = evento de saúde; NLj= efeito do número de lactações, Fk= efeito da propriedade e εijk = erro) e suas médias contrastadas pelo teste de Tukey. A proporção de eventos clínicos e subclínicos entre vacas multíparas e primíparas foram contrastadas pelo teste de Qui-quadrado ou Fisher. As diferenças foram consideradas significativas quando P< 0,05.

#### **RESULTADOS**

Do total de 119 vacas avaliadas neste estudo, 96 vacas (80,7%) sofreram algum tipo de transtorno, sendo 26,9% clínicos e 53,8% subclínicos (Tabela 1). Os transtornos clínicos ocorreram em 31,6% das vacas multíparas e em 17,5% das vacas primíparas. Nos transtornos subclínicos 53% das multíparas e 55% das primíparas foram acometidas. As vacas com transtornos subclínicos e clínicos concomitantes, foram contabilizadas como

cursando transtornos clínicos. As primíparas apresentaram maior proporção de animais sem transtornos quando comparado com as vacas multíparas (P < 0.05).

Vacas com dois ou mais transtornos clínicos associados, assim como aquelas com DA apresentaram as menores produções lácteas entre 6 a 21 DEL, entretanto entre 22 a 42 DEL as vacas com dois ou mais eventos somente tiveram produção láctea inferior as vacas cursando com cetose subclínica. Porém, no período de 43 a 62 DEL as vacas com duas ou mais doenças clínicas apresentaram a menor produção láctea, enquanto que vacas que cursaram com RP e vacas com cetose subclínica apresentaram as maiores taxas produtivas (Tabela 2). Somente foram observadas diferenças no conteúdo de gordura láctea entre vacas com eventos clínicos no período de 6 a 21 DEL, sendo os maiores conteúdos de gordura observados nas vacas com duas ou mais doenças clínicas, porém não diferindo das vacas com cetose ou metrite (Tabela 3). A proteína láctea foi maior nas vacas com mastite e sem transtornos, no período de 22 a 42 DEL (Tabela 4). Similar ao observado com o conteúdo de gordura láctea ocorreu com o cociente G:P (Tabela 5) que foi superior nas vacas com duas ou mais doenças clínicas, enquanto no período de 22 a 42 DEL foi maior nas vacas com cetose clínica seguido pelas vacas com mastite, duas ou mais doenças clínicas, metrite, DA e cetose subclínica e hipocalcemia subclínica associada com cetose subclínica.

Os valores de AGNE no período de pré-parto (dias -15 a 0) não apresentaram diferenças entre os grupos de vacas e estiveram acima de 400 µmol/L. No período de 6 a 21 DEL, apenas as vacas sem transtornos clínicos e com hipocalcemia subclínica apresentaram valores inferiores a 700 µmol/L, sendo que as vacas com 2 ou mais transtornos clínicos apresentaram as concentrações de AGNE mais elevadas que os outros grupos. No período de 22 a 42 DEL, vacas com cetose e metrite apresentaram as maiores concentrações de AGNE, e com valores superiores a 700 µmol/L (Tabela 6).

Os valores de BHB entre o período de pré-parto e no período de 43 a 62 DEL foram similares entre vacas cursando eventos clínicos, subclínicos e vacas sem eventos (Tabela 7). No período de 6 a 21 DEL as vacas sem transtornos clínicos apresentaram os menores valores de BHB. Por outro lado, as vacas com cetose clínica e aquelas com duas ou mais doenças clínicas, exibiram os maiores valores de BHB, sendo eles superiores a 2,6 mmol/L. Vacas com cetose subclínica e aquelas com DA apresentaram valores de BHB acima de 1,2 mmol/L. No período de 22 a 42 DEL as vacas com cetose clínica, cetose subclínica e hipocalcemia subclínica associada a cetose subclínica, apresentaram valores superiores a 1,2mmol/L de BHB.

Os valores médios de cálcio sérico apresentaram-se acima de 2,0 mmol/L durante todos os períodos estudados (-15 a 62 DEL) nas vacas sem transtornos e naquelas com cetose subclínica e RP. No período pré-parto o cálcio apresentou-se abaixo de 2 mmol/L nas vacas com hipocalcemia subclínica, hipocalcemia subclínica associado a cetose subclínica, DA, cetose clínica e mastite. No período de 6 a 21 DEL os níveis de cálcio apresentaram-se baixos nas vacas com hipocalcemia subclínica, hipocalcemia subclínica associada a cetose subclínica, mastite, metrite, DA e duas ou mais doenças clínicas. As vacas com hipocalcemia subclínica restabeleceram os valores de cálcio (acima de 2,0 mmol/L) 43 dias após o parto. Apresentaram hipocalcemia as vacas com DA em todos os períodos estudados (-15 a 62 DEL) e as vacas com metrite, no período de 6 a 62 DEL (Tabela 8).

As vacas com duas ou mais doenças clínicas associadas, no período de 6 a 21 DEL, apresentaram médias de AST em torno de 173,6 UI/L, enquanto as demais vacas apresentaram médias de AST inferiores a 132 UI/L (Tabela 9).

Não houve evidências de hipofosfatemia ou hipomagnesemia nos animais. Por outro lado, os maiores níveis séricos de ureia ocorreram em vacas com DA e com mastite.

O ECC foi maior no período de pré-parto para todas as vacas. As perdas de ECC foram aumentando conforme a lactação avançava, sendo que as maiores perdas ocorreram em vacas com cetose clínica seguido por vacas com duas ou mais doenças clínicas, DA, RP e mastite (Tabela 10).

## **DISCUSSÃO**

No presente estudo, foi encontrada uma ocorrência de 26,9% de transtornos clínicos, sendo mastite, deslocamento de abomaso, retenção de placenta, metrite e cetose, os principais. Em um estudo retrospectivo de 26 anos no Canadá, utilizando informações de cinco bancos de dados (Agricola, Medline, CAB Abstracts, Life Sciences, Focus On), foram encontradas as seguintes ocorrências de transtornos em vacas leiteiras: 8,6% de retenção de placenta, 14,2% de mastite, 10,1% de metrite, 4,8% de cetose e 1,7% de DA (KELTON et al., 1998). As ocorrências das doenças do presente estudo estiveram abaixo das encontradas na literatura, exceto no caso de DA que apresentou frequência maior, embora Kelton et al. (1998) encontraram variação na frequência de DA, em 22 estudos, na ordem de 0,3% a 6,3%.

Os transtornos subclínicos ocorreram em 53,8%, sendo hipocalcemia subclínica (26%) mais frequente que a cetose subclínica (16%). As frequências destes transtornos

metabólicos estão de acordo com os achados de Reinhard et al. (2011), que encontraram níveis plasmáticos de cálcio abaixo de 2,0 mmol/L em 25 a 54% das vacas estudadas, e de Dohoo e Martin (1984) quem relataram até 33,9% de cetose subclínica em vacas no período de 0 a 65 DEL. Ainda, Garcia et al. (2011), observaram ocorrência de 24% de cetose subclínica em vacas de alta produção no Rio Grande do Sul.

A produção leiteira das vacas que apresentaram cetose clínica ou subclínica, metrite, hipocalcemia subclínica, mastite e DA, não diferiram das vacas sem transtornos. As vacas com episódios de RP apresentaram a maior produção de leite, indicando que esse tipo de distúrbio uterino pode não afetar o potencial produtivo, sempre que esses animais sejam tratados oportunamente e apresentem mérito genético para produção. Otero et al. (2013) citam que as alterações metabólicas em vacas leiteiras estão aumentando progressivamente à medida em que aumenta a pressão de seleção para maior produção causando perdas produtivas. Vacas com duas ou mais doenças clínicas neste estudo, apresentaram a menor produção leiteira.

A avaliação dos componentes químicos do leite mostrou que vacas com episódios de RP, grupo com maior produção leiteira, apresentaram também a menor concentração de gordura. Weiss et al. (2002), atribuem a diminuição dos sólidos ao maior volume de leite produzido no início da lactação e, consequente a diluição dos componentes.

As maiores concentrações de gordura e os maiores cocientes G:P estiveram associados aos maiores valores de AGNE, BHB e ECC em vacas com duas ou mais doenças clínicas e naquelas com cetose clínica ou subclínica. Herdt (2000) utilizou os AGNE e o BHB para definir a severidade do balanço energético negativo. Ospina et al. (2010) observaram diminuição da produção de leite em vacas com elevadas concentrações de AGNE e BHB no período pré-parto e em vacas multíparas, enquanto que nas vacas primíparas a produção foi maior. No presente estudo, somente as vacas com duas ou mais doenças clínicas apresentam menor produção associada a elevadas concentrações de AGNE e BHB no pré-parto, mas estas mesmas vacas mantiveram elevadas concentrações de AGNE e BHB após o parto, possivelmente motivado pela associação de duas ou mais doenças clínicas que resultaram na diminuição do consumo alimentar e a consequente perda de 1,4 pontos no ECC do período seco até os 62 dias pós-parto.

A proteína láctea não apresentou diferença entre os animais com ou sem transtornos. Sutton (1989) cita que o teor de proteína bruta da dieta possui pouco efeito sobre o teor proteico do leite. Entretanto, este mesmo autor afirma que o fornecimento de

dietas com deficiências de proteína, assim como descrito por Noro et al. (2003), pode reduzir a concentração deste componente no leite em até 0,2 unidades percentuais e que a interferência ocorre de forma mais acentuada na produção de leite do que na composição proteica.

As vacas com mastite e hipocalcemia subclínica associada a cetose subclínica apresentaram concentrações de proteína láctea acima de 3,0%. Kitchen (1981) e Munro et al. (1984) atribuíram o aumento da concentração de proteínas no leite de vacas com mastite ao aumento das proteínas séricas (principalmente globulinas), devido à maior permeabilidade vascular em consequência do processo inflamatório.

As vacas com mastite e com duas ou mais doenças clínicas apresentaram os maiores níveis de CCS e as menores concentrações de lactose neste estudo. A lactose está relacionada com a manutenção da osmolaridade e com os processos de produção e secreção do leite, pois responde por aproximadamente 50% da capacidade de atração de água para o interior do alvéolo mamário, sendo responsável por sustentar a produção (LARSON, 1997). A lactose é relativamente insensível às mudanças na dieta das vacas, no entanto, vacas subnutridas (HURLEY, 2004), com severo balanço energético negativo (MUHLBACH, 2003), elevada suplementação com gorduras (SUTTON, 1989) e aumento da CCS (GONZÁLEZ et al., 2011) podem apresentar diminuição das concentrações de lactose.

As vacas com hipocalcemia subclínica, DA e metrite apresentaram concentrações de cálcio inferiores a 2,0 mmol/L, sendo este o limite mínimo para estabelecer diagnóstico de hipocalcemia subclínica (GOFF, 2008). Massey et al. (1993) descreveram que o risco de deslocamento de abomaso à esquerda foi quase cinco vezes maior entre as vacas com hipocalcemia subclínica. Entretanto, Leblanc et al. (2005) não encontraram relação entre as concentrações séricas de cálcio e a incidência de DA, sugerindo que este transtorno pode ser motivado pela baixa ingestão de matéria seca no pré-parto.

A ocorrência de DA e metrite em vacas hipocalcêmicas pode estar associada à diminuição da motilidade da musculatura lisa, dificultando a eliminação dos gases do sistema digestivo ou do conteúdo uterino, como observado neste estudo. Martinez et al. (2012) encontraram maior risco de metrite em vacas com hipocalcemia subclínica. Por outro lado, Chapinal et al. (2011) observaram que a hipocalcemia subclínica na primeira semana após o parto não esteve correlacionada com a metrite, mas aumentou o risco de desenvolvimento de DA.

As vacas com cetose clínica apresentaram a maior concentração de gordura no leite (4,18%), maior cociente G:P (1,48%) e maior perda de ECC. A excessiva perda de peso e a intensa mobilização lipídica que ocorre na cetose clínica aumentam os AGNE circulantes, que são incorporados na glândula mamária para a síntese de gordura no leite, de forma que a gordura láctea pode ser utilizada como um indicador para o diagnóstico de lipomobilização e consequente aumentada do risco de cetose (DUFFIELD et al., 1997). Bauman & Griinari (2003), sugerem que animais em balanço energético negativo têm a lipólise como fonte de maior contribuição para a gordura do leite. No presente estudo, foi possível comprovar a intensa mobilização lipídica em vacas com cetose clínica, com duas ou mais doenças clínicas e com cetose subclínica, pois estas apresentaram perda acima de 1 ponto de ECC, elevados níveis de AGNE, BHB, gordura láctea e cociente G:P. Segundo DUFFIELD et al. (1997), o risco de cetose aumenta quando o cociente G:P for igual ou maior que 1,5, enquanto SEIFI et al. (2010), atribuíram o ponto de corte de 1,2 como indicador da elevação do risco de cetose.

O diagnóstico laboratorial de severa mobilização lipídica no pós-parto pode ser realizado quando os níveis séricos de AGNE estiverem superiores a 700 µmol/L (OSPINA et al., 2010), enquanto casos clínicos de cetose podem ser identificados através de concentrações elevadas de BHB (> 2,6 mmol/L) (DUFFIELD, 2000). Neste estudo, todas as vacas apresentaram níveis de AGNE acima de 400 µmol/L no período pré-parto e as vacas com mastite, metrite, DA e cetose subclínica apresentaram níveis de BHB acima de 0,6 mmol/L nesse mesmo período.

No período de 6 a 21 DEL, as vacas com duas ou mais doenças clínicas apresentaram elevada concentração de gordura láctea, baixas concentrações de proteína, AGNE acima de 700 μmol/L, BHB superior a 2,6 mmol/L, maior perda de ECC e maiores concentrações da enzima hepática AST (172 ± 12,3 U/L). Provavelmente, a perda de CC decorreu da baixa ingestão de matéria seca, levando a menor produção de leite e de concentração de proteína láctea. A maior mobilização lipídica proporcionou o aporte de AGNE ao tecido mamário e o incremento da gordura láctea e do cociente G:P. Além disso, a lipomobilização ocasionou aporte excessivo de AGNE ao fígado e, possível lipidose hepática com aumento da enzima AST. Cebra et al. (1997) e Gerloff (1986) não detectaram aumento da enzima AST nos casos de lipidose de grau leve a moderado, enquanto que em vacas com lipidose severa observaram valores médios de AST de 253 U/L. Neste estudo,

apenas as vacas com duas ou mais doenças clínicas apresentaram concentrações de AST sugestivas de lesão hepática por possível lipidose.

As vacas com DA apresentaram concentrações de ureia sanguínea superiores a 7,0 mmol/L, sendo que os limites referenciais em vacas leiteiras oscilam entre 2,5 a 7,0 mmol/L (NORO et al., 2003). Uma concentração de ureia sanguínea superior a 7,0 mmol/L é indicativa de azotemia pré-renal (NORO & WITTWER, 2003).

### CONCLUSÃO

Observou-se elevada ocorrência de transtornos clínicos e subclínicos nos animais deste estudo, porém compatíveis com a literatura mundial para vacas de alta produção. A produção de leite foi afetada por alguns desses transtornos e esteve associada com o balanço energético negativo. Contudo, recomenda-se aos médicos veterinários uma maior abordagem investigativa e rotineira nas vacas, principalmente no período de transição. Os indicadores metabólicos e lácteos apresentam-se como métodos diagnósticos preventivos, práticos e confiáveis, auxiliando na redução das perdas da produção e na melhora da qualidade do leite.

#### **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem a Eduardo Mühl, Cassiana Machado e Silvio Cesar Rodegheri pelo apoio prestado nas coletas e análises das amostras, assim como aos proprietários das fazendas utilizadas neste trabalho, André Van Riel e Luciano Albrecht, por disponibilizarem funcionários e animais para a condução do experimento. Agradecimentos também ao CNPq pelo apoio financeiro ao trabalho e pela bolsa de estudos ao primeiro autor.

### REFERÊNCIAS

- BARROS, L. Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; DÜRR, J.W.; FONTANELI, R.S. (eds.) Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2001. p.44-57.
- BAUMAN, D.E.; 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.
- CARRIER, J.; STEWART, S.; GODDEN, S.; FETROW, J.; RAPNICKI, P. Evaluation and use of three cow side tests for detection of subclinical ketosis in early postpartum cows. Journal of Dairy Science, v. 87. p. 3725-3735, 2004.

- CEBRA, C. K.; GARRY, F. B.; GETZY, D. M.; FETTMAN, M. J. Hepatic lipidosis in anorectic, lactating Holstein cattle: a retrospective study of serum biochemical abnormalities. Journal of Veterinary Internal Medicine, v. 11, p. 231-237, 1997.
- CHAPINAL, N.; CARSON, M.; DUFFIELD, T. F.; CAPEL, M.; GODDEN, S.; OVERTON, M.; SANTOS, J. E. P.; LEBLANC, S. J. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. Journal of Dairy Science, v. 94, p. 4897–4903, 2011.
- DOHOO, I. R.; MARTIN, S. W. Subclinical ketosis: prevalence and associations with production and disease. Canadian Journal of Comparative Medicine, v. 48, p. 1-5, 1984.
- DRACKLEY, J.K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? Journal of Dairy Science, v. 82, p. 2259-2273, 1999.
- DUFFIELD, T. F., KELTON, D. F., LESLIE, K.E., LISSEMORE, K.D. LUMSDEN, J.H. Use of test day milk fat and milk protein to detect subclinical ketosis in dairy cattle in Ontario. Canadian Veterinary Journal, v. 38, p. 713-718, 1997.
- DUFFIELD, T. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. The Veterinary clinics of North America. Food animal practice, v. 16, p. 231-253, 2000.
- EDMONSON, A. J., LEAN, I. J., WEAVER, L. D., FARVER, T., WEBSTER, G. A Body Condition Scoring Chart for Holstein Dairy Cows. Journal of Dairy Science. v. 72, p. 68-78, 1989.
- GARCIA, A. M. B., CARDOSO, F.C., CAMPOS, R., THEDY, D. X., GONZALEZ, F.H.D. Metabolic evaluation of dairy cows submitted to three different strategies to decrease the effects of negative energy balance in early postpartum. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 31, (supl. 1), p. 11-17, 2011.
- GERLOFF, B. J.; HERDT, T. H.; EMERY, R. S. Relationship of hepatic lipidosis to health and performance in dairy cattle. Journal of the American Veterinary Medical Association, v. 8, p. 845-850, 1986.
- 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.
- GONZÁLEZ, F. H. D. O perfil metabólico no estudo de doenças da produção em vacas leiteiras. Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS, v.25, p. 13-33, 1997,
- GONZÁLEZ, F. H. D., NORO, G. (2011). Variação na composição do leite no subtrópico brasileiro. In: Qualidade do leite bovino: variações no trópico e subtrópico. UPF Editora, Passo Fundo.
- HERDT, T. H. Ruminant adaptation to negative energy balance: influences on the etiology of ketosis and fatty liver. The Veterinary clinics of North America. Food animal practice, v. 16, p. 215–230, 2000.

- HRISTOV, A. ROPP, J. K. Effect of dietary carbohydrate composition and availability on utilization of ruminal ammonia nitrogen for milk protein synthesis in dairy cows. Journal of Dairy Science, v. 86, p. 2416-2427. 2003.
- HURLEY, W. L. Nutritional factors affecting milk yield and composition. University of Illinois. Disponível em: www.classes.aces.uiuz.ede/ansci308/factorsnutritional.html Acessado em: 15 de maio de 2004.
- KELTON, D. F.; LISSEMORE, K. D.; MARTIN, R. E. Recommendations for Recording and Calculating the Incidence of Selected Clinical Diseases of Dairy Cattle. Journal of Dairy Science. v.81, p. 2502-2509, 1998.
- KITCHEN, B.J. Bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. Journal of Dairy Research, v. 8, p. 67-88, 1981.
- LARSON, S.F.; BUTLER, W.R.; CURRIE, W.B. Reduced fertility associated with low progesterone postbreeding and increased milk urea nitrogen in lactating cows. Journal of Dairy Science, v. 80, p. 1288-1295, 1997.
- LEBLANC, S. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. Journal of Reproduction and Development, v. 56, p. 29-35, 2010.
- MARTINEZ, N.; RISCO, C. A.; LIMA, F. S.; BISINOTTO, R. S.; GRECO, L. F.; RIBEIRO, E. S.; MAUNSELL, F.; GALVÃO K.; SANTOS, J. E. P. Evaluation of peripartal calcium status, energetic profile, and neu-trophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. Journal of Dairy Science, v. 95, p. 7158–7172, 2012.
- MASSEY, C. D.; WANG, C.; DONOVAN, G. A.; BEEDE D. K. Hypocalcemia at parturition as a risk factor for left displacement of the abomasum in dairy cows. Journal of the American Veterinary Medical Association, v. 203, p. 852–853 1993.
- MUNRO, G.L.; GRIEVE, P.A.; KITCHEN, B.J. Effects of mastitis on milk yield, milk composition, processing properties and yield and quality of milk products. Australian Journal of Dairy Technology, v. 39, p.7-16, 1984.
- NORO, M., WITTWER, F. Utilidad de la determinación de urea en la leche. Vetermas, v. 2, p. 2-5, 2003.
- NORO, M.; WITTWER, F. (2012). Relationships between liver ureagenesis and gluconeogenesis in ruminants fed with a high nitrogen diet. Vet Méx, 43(2): 143-154.
- NATINOAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient requirement of dairy cattle. Washington DC.: National Academy Press. 2001.
- OSPINA, P. A.; NYDAM, D. V.; STOKOL, T.; OVERTON, T. R. Associations of elevated nonesterified fatty acids and β-hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. Journal of Dairy Science, v. 93, p. 1596–1603, 2010.

- OTERO, R. M.; BERMÚDEZ, J. H.; GONZÁLES, J. M. C.; RODRIGUEZ, C. R.; ALONSO, M. L.; LESTAYO, V. P.; CHAS, P. V.; SEBIO, A. A.; GONZÁLEZ, F. H. D.; CASTELLOTE, J. L. B. Desórdenes metabólicas en las vacas lecheras de alta producción (VLAP). Asociación de Veterinarios Españoles Especialistas en Buiatría. Lugo. 2013. p. 154.
- RADOSTITS, O. M., GAY, C. C., BLOOD, D. C., HINCHCLIFF, K. W. Veterinary Medicine, 9. ed., W. B. Saunders Company, 2000.
- SANTOS, M.V. Aspectos não microbiológicos afetando a qualidade do leite. In: DÜRR, J.W.; CARVALHO, M.P.; SANTOS, M.V. (eds.) O compromisso com a qualidade do leite no Brasil. Passo Fundo: Editora Universidade de Passo Fundo. 2004. p.269-283.
- SEIFI, H.A.; LEBLANC, S.J.; LESLIE, K.E.; DUFFIELD, T.F. Metabolic predictors of post-partum disease and culling risk in dairy cattle. Veterinary Journal, v. 188, p. 216-220, 2010.
- SUTTON, J. D. Altering milk composition by feeding. Journal of Dairy Science. v. 72, p. 2801-2814, 1989.
- VASQUE-ANON, M.; BERTICS, S.; LUCK, M.; GRUMMER, R. R. Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. Journal Dairy Science, v. 77, p. 521, 1994.
- WEISS, D., HILGER, M., MEYER, H. H. D., BRUCKMAIER, R. M., Variable milking intervals and milk composition. Milchwissenschaft v. 57, p. 246-249, 2002.
- WITTWER, F. Empleo de los perfiles metabólicos en el diagnóstico de desbalances metabólicos nutricionales en el ganado. Buiatria, v.2, p.16-20, 1995.
- ZANELA, M. B., FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; BARBOSA, R. S.; MARQUES, L. T.; JUNIOR, W. S.; ZANELA, C. Leite instável não-ácido e composição do leite de vacas Jersey sob restrição alimentar. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 41, p. 835-840, 2006.

**Tabela 1.** Número e percentual de vacas com manifestação de transtornos clínicos, subclínicos e sem transtornos metabólicos de acordo ao número de partos (primíparas e multíparas) no período de 6 a 62 dias em leite, em duas fazendas leiteiras do Rio Grande do Sul (Brasil).

Transtorno	n (%)	Primíparas n=40 (%)	Multíparas n=79 (%)
Clínico	32 (26,9)	7 (17,5)	25 (31,6)
Retenção de placenta	5 (4,2)	3 (7,5)	2 (2,5)
Mastite	7 (5,9)	0 (0,0)	7 (8,9)
Metrite	5 (4,2)	1 (2,5)	4 (5,1)
Cetose	4 (3,4)	1 (2,5)	3 (3,8)
Deslocamento de abomaso	6 (5,0)	1 (2,5)	5 (6,3)
Dois ou mais transtornos			
clínicos	5 (4,2)	1 (2,5)	4 (5,1)
Subclínico	64 (53,8)	22 (55,0)	42 (53,0)
TT' 1 '	21 (26.1)	16 (40.0)	15 (10.0)
Hipocalcemia	31 (26,1)	16 (40,0)	15 (19,0)
Cetose	19 (16,0)	2 (5,0)	17 (21,5)
Hipocalcemia + cetose	14 (11,8)	4 (10,0)	10 (12,7)
Sem transtornos	23 (19,3)	11 (27,5)	12 (15,2)

**Tabela 2.** Média e desvio padrão (L/vaca/dia) de produção de leite, em vacas com manifestação de transtornos clínicos, subclínicos e sem transtornos metabólicos, nos períodos de 6 a 21, 22 a 42 e 43 a 62 dias em lactação, em duas fazendas leiteiras do Rio Grande do Sul (Brasil).

		Produção	
DEL	6 a 21	22 a 42	43 a 62
Transtornos Clínicos			
RP	$35,5 \pm 3,4^{a}$	$41,4 \pm 3,4^{ab}$	$58,2 \pm 7,6^{a}$
Mastite	$35,3 \pm 2,8^{a}$	$34,1 \pm 2,5^{ab}$	$32,6 \pm 2,7^{bc}$
Metrite	$35,2 \pm 3,8^{a}$	$38,4 \pm 2,8^{ab}$	$40,2 \pm 2,8^{ab}$
Cetose	$31,2 \pm 3,8^{a}$	$32.8 \pm 3.4^{ab}$	$28,4 \pm 3,4^{bc}$
DA	$26,6 \pm 2,8^{b}$	$30,0 \pm 3,4^{ab}$	$36,6 \pm 3,4^{b}$
Duas ou mais doenças	L.	L	_
clínicas	$17,5 \pm 3,1^{\rm b}$	$25,4 \pm 3,1^{\rm b}$	$27,7 \pm 4,4^{c}$
Transtornos Subclínicos			
Hipocalcemia	$35,1 \pm 1,2^{a}$	$38,1 \pm 1,1^{ab}$	$38,5 \pm 1,2^{b}$
Cetose	$35,4 \pm 1,6^{a}$	$38,9 \pm 1,5^{a}$	$39,8 \pm 1,5^{a}$
Hipocalcemia + cetose	$27,2 \pm 2,0^{ab}$	$32,6 \pm 1,9^{ab}$	$32,7 \pm 2,0^{b}$
Sem eventos	$35,1 \pm 1,5^{a}$	$37,7 \pm 1,4^{ab}$	$38,2 \pm 1,4^{b}$

**Tabela 3.** Média e desvio padrão do percentual de gordura no leite de vacas com manifestação de transtornos clínicos, subclínicos e sem transtornos metabólicos, nos períodos de 6 a 21, 22 a 42 e 43 a 62 dias em lactação, em duas fazendas leiteiras do Rio Grande do Sul (Brasil).

		Gordura	
DEL	6 a 21	22 a 42	43 a 62
Transtornos clínicos			
RP	$3,4 \pm 0,3^{b}$	$3,2 \pm 0,3$	$2,7 \pm 0,7$
Mastite	$3,9 \pm 0,2^{b}$	$3,9 \pm 0,2$	$3,4 \pm 0,2$
Metrite	$4,1 \pm 0,3^{ab}$	$3,4 \pm 0,2$	$3,2 \pm 0,2$
Cetose	$4,7 \pm 0,3^{ab}$	$4,2 \pm 0,3$	$3,4 \pm 0,3$
DA	$3,9 \pm 0,2^{b}$	$3,4 \pm 0,3$	$3,1 \pm 0,3$
Duas ou mais doenças			
clínicas	$6,0 \pm 0,3^{a}$	$3,7 \pm 0,3$	$2,6 \pm 0,4$
Transtornos Subclínicos			
Hipocalcemia	$3,9 \pm 0,1^{b}$	$3,3 \pm 0,1$	$3,5 \pm 0,1$
Cetose	$3.8 \pm 0.1^{b}$	$3,5 \pm 0,1$	$3,2 \pm 0,1$
Hipocalcemia + cetose	$4,0 \pm 0,2^{b}$	$3,5 \pm 0,1$	$3,1 \pm 0,2$
Sem eventos	$3.8 \pm 0.1^{b}$	$3,4 \pm 0,1$	$3,1 \pm 0,1$

**Tabela 4.** Média e desvio padrão do percentual de proteína no leite de vacas com manifestação de transtornos clínicos, subclínicos e sem transtornos metabólicos, nos períodos de 6 a 21, 22 a 42 e 43 a 62 dias em lactação, em duas fazendas leiteiras do Rio Grande do Sul (Brasil).

		PROTEÍNA	
DEL	6 a 21	22 a 42	43 a 62
Transtornos clínicos			
RP	$3,2 \pm 0,2$	$2,7 \pm 0,2^{b}$	$2,7\pm0,4$
Mastite	$3,2 \pm 0,1$	$3.0 \pm 0.1^{a}$	$2,9 \pm 0,1$
Metrite	$3,0 \pm 0,2$	$2,7 \pm 0,1^{b}$	$2,7 \pm 0,1$
Cetose	$3,1 \pm 0,2$	$2,7 \pm 0,2^{b}$	$2,7 \pm 0,2$
DA	$2,8 \pm 0,1$	$2,7 \pm 0,2^{b}$	$2,6 \pm 0,2$
Duas ou mais doenças		1	
clínicas	$3,2 \pm 0,2$	$2,7 \pm 0,2^{\rm b}$	$2,9 \pm 0,2$
Transtornos Subclínicos			
Hipocalcemia	$3,0 \pm 0,0$	$2,7 \pm 0,0^{\rm b}$	$2,7 \pm 0,0$
Cetose	$3,1 \pm 0,1$	$2,7 \pm 0,0^{\rm b}$	$2,7 \pm 0,1$
Hipocalcemia + cetose	$3,8 \pm 0,1$	$2,7 \pm 0,1^{b}$	$2,7\pm0,1$
Sem eventos	$3,1 \pm 0,1$	$2.8 \pm 0.0^{a}$	$2,8\pm0,0$

**Tabela 5.** Média e desvio padrão do cociente entre gordura e proteína (G:P) no leite de vacas com manifestação de transtornos clínicos, subclínicos e sem transtornos metabólicos, nos períodos de 6 a 21, 22 a 42 e 43 a 62 dias em lactação, em duas fazendas leiteiras do Rio Grande do Sul (Brasil).

<u>-</u>		G:P	
DEL	6 a 21	22 a 42	43 a 62
Transtornos Clínicos			
RP	$1,0 \pm 0,1^{\rm b}$	$1,1 \pm 0,1^{\rm b}$	$1,01 \pm 0,2$
Mastite	$1,2 \pm 0,0^{\rm b}$	$1,3 \pm 0,0^{ab}$	$1,21 \pm 0,0$
Metrite	$1,3 \pm 0,1^{ab}$	$1,2 \pm 0,0^{ab}$	$1,19 \pm 0,0$
Cetose	$1,5 \pm 0,1^{ab}$	$1,5 \pm 0,1^{a}$	$1,28 \pm 0,1$
DA	$1,4 \pm 0,0^{ab}$	$1,2 \pm 0,1^{ab}$	$1,17 \pm 0,1$
Duas ou mais doenças			
clínicas	$1.8 \pm 0.0^{a}$	$1,3 \pm 0,0^{ab}$	$0,90 \pm 0,1$
Transtornos Subclínicos			
Hipocalcemia	$1,2 \pm 0,0^{b}$	$1,2 \pm 0,0^{\rm b}$	$1,24 \pm 0,0$
Cetose	$1,2 \pm 0,0^{b}$	$1,2 \pm 0,0^{ab}$	$1,18 \pm 0,0$
Hipocalcemia + cetose	$1,1 \pm 0,0^{b}$	$1,3 \pm 0,0^{ab}$	$1{,}14\pm0{,}0$
Sem eventos	$1,2 \pm 0,0^{b}$	$1,2 \pm 0,0^{b}$	$1,11 \pm 0,0$

**Tabela 6.** Concentrações médias e desvio padrão de ácidos graxos não esterificados (AGNE) no período de -15 a 62 dias em lactação, em vacas leiteiras com ou sem transtornos clínicos e subclínicos, em duas fazendas leiteiras do Rio Grande do Sul (Brasil).

_		AGNE (µmol/L)	
DEL	-15 a 0	6 a 21	22 a 42
Transtornos Clínicos			
RP	$524 \pm 246$	$702 \pm 174^{b}$	$447 \pm 246^{ab}$
Mastite	$404 \pm 131$	$844 \pm 116^{b}$	$555 \pm 155^{ab}$
Metrite	$484 \pm 174$	$748 \pm 155^{\rm b}$	$789 \pm 201^{a}$
Cetose	$405 \pm 247$	$1122 \pm 155^{b}$	$859 \pm 201^{a}$
DA	$487 \pm 142$	$1000 \pm 155^{\rm b}$	$632 \pm 174^{ab}$
Duas ou mais doenças			
clínicas	$570 \pm 201$	$2161 \pm 156^{a}$	$590 \pm 174^{ab}$
Transtornos Subclínicos			
Hipocalcemia	$474 \pm 68$	$681 \pm 65^{b}$	$548 \pm 87^{ab}$
Cetose	$559 \pm 110$	$936 \pm 101^{b}$	$674 \pm 123^{a}$
Hipocalcemia + cetose	$401 \pm 116$	$856 \pm 90^{b}$	$555 \pm 142^{ab}$
Sem eventos	$495 \pm 87$	$680 \pm 87^{b}$	$414 \pm 110^{b}$

**Tabela 7.** Concentrações médias e desvio padrão de beta-hidroxibutirato (BHB) no período de -15 a 62 dias em lactação, em vacas leiteiras com ou sem transtornos clínicos e subclínicos, em duas fazendas leiteiras do Rio Grande do Sul (Brasil).

		BHB (mmol/L)		
DEL	-15 a 0	6 a 21	22 a 42	43 a 63
<b>Eventos Clínicos</b>				_
RP	$0,57 \pm 0.46$	$1,00 \pm 0,29^{bcd}$	$1,03 \pm 0,32^{abc}$	$1,10 \pm 0,65$
Mastite	$0,61 \pm 0,24$	$0.94 \pm 0.20^{cd}$	$0,90 \pm 0,23^{bcd}$	$0.81 \pm 0.37$
Metrite	$0,64 \pm 0,29$	$0.98 \pm 0.26^{\text{bcd}}$	$0.92 \pm 0.26^{\text{bcd}}$	$0,90 \pm 0,29$
Cetose	$0,44 \pm 0,46$	$2,79 \pm 0,24^{a}$	$2,06 \pm 0,37^{ab}$	$0,73 \pm 0,32$
DA	$0,60 \pm 0,26$	$1,44 \pm 0,26^{bc}$	$0.94 \pm 0.24^{\text{bcd}}$	$0,63 \pm 0,46$
Duas ou mais doenças				
clínicas	$0,55 \pm 0,32$	$2,93 \pm 0,29^{a}$	$0,68 \pm 0,29^{\text{bcd}}$	$0,51 \pm 0,46$
<b>Eventos Subclínicos</b>				
Hipocalcemia	$0,58 \pm 0,12$	$0.89 \pm 0.10^{d}$	$0,79 \pm 0,11^{d}$	$0.87 \pm 0.13$
Cetose	$0,68 \pm 0,16$	$1,42 \pm 0,13^{b}$	$1,46 \pm 0,13^{ab}$	$1,08 \pm 0,17$
Hipocalcemia + cetose	$0,53 \pm 0,19$	$1,18 \pm 0,13^{bc}$	$1,99 \pm 0,17^{a}$	$0.86 \pm 0.17$
Sem eventos	$0,53 \pm 0,15$	$0.93 \pm 0.13^{d}$	$0.78 \pm 0.13^{\text{bcd}}$	$1,03 \pm 0,14$

**Tabela 8.** Concentrações médias e desvio padrão de cálcio sérico no período de -15 a 62 dias em lactação, em vacas leiteiras com ou sem transtornos clínicos e subclínicos, em duas fazendas leiteiras do Rio Grande do Sul (Brasil).

	Cálcio (mmol/L)				
DEL	-15 a 0	6 a 21	22 a 42	43 a 62	
<b>Eventos Clínicos</b>					
RP	$2,01 \pm 0,17$	$2,01 \pm 0,10^{ab}$	$2,21 \pm 0,12$	$2,15 \pm 0,24$	
Mastite	$1,95 \pm 0,09$	$1,93 \pm 0.07^{b}$	$2,12 \pm 0,08$	$1,99 \pm 0,13$	
Metrite	$2,00 \pm 0,10$	$1,99 \pm 0,09^{ab}$	$1,89 \pm 0,09$	$1,83 \pm 0,10$	
Cetose	$1,60 \pm 0,17$	$1,97 \pm 0,09^{b}$	$2,10 \pm 0,13$	$2,07 \pm 0,12$	
DA	$1,87 \pm 0,09$	$1,90 \pm 0,09^{b}$	$1,98 \pm 0,09$	$1,85 \pm 0,17$	
Duas ou mais doenças		L			
clínicas	$2,35 \pm 0,12$	$1,94 \pm 0,10^{b}$	$2,12 \pm 0,10$	$2,11 \pm 0,17$	
<b>Eventos Subclínicos</b>					
Hipocalcemia	$1,88 \pm 0,04$	$1,98 \pm 0.03^{b}$	$1,98 \pm 0,04$	$2,02 \pm 0,04$	
Cetose	$2,05 \pm 0,06$	$2,22 \pm 0,05^{a}$	$2,11 \pm 0,05$	$2,08 \pm 0,06$	
Hipocalcemia + cetose	$1,97 \pm 0,07$	$1,95 \pm 0,04^{\rm b}$	$2,01 \pm 0,06$	$2,03 \pm 0,06$	
Sem eventos	$2,03 \pm 0,05$	$2,10 \pm 0,04^{ab}$	$2,09 \pm 0,04$	$2,08 \pm 0,05$	

**Tabela 9.** Concentrações médias e desvio padrão da atividade de AST sérico no período de -15 a 62 dias em lactação, em vacas leiteiras com ou sem transtornos clínicos e subclínicos, em duas fazendas leiteiras do Rio Grande do Sul (Brasil).

<del>-</del>				
		AST (UI/L)		
DEL	-15 a 0	6 a 21	22 a 42	43 a 62
Transtornos Clínicos				
RP	$72,6 \pm 19,4$	$104,2 \pm 12,3^{bc}$	$89,7 \pm 13,7$	$80,6 \pm 27,5$
Mastite	$70,4 \pm 10,4$	$85,9 \pm 8,7^{c}$	$76,9 \pm 9,7$	$80,8 \pm 15,8$
Metrite	$82,5 \pm 12,3$	$126,6 \pm 11,2^{b}$	$92,1 \pm 11,2$	$82,3 \pm 12,3$
Cetose	$64,3 \pm 19,4$	$107,8 \pm 10,4^{bc}$	$122,8 \pm 15,8$	$89,2 \pm 13,7$
DA	$60,9 \pm 11,2$	$114,9 \pm 11,2^{bc}$	$103,7 \pm 10,4$	$86,2 \pm 19,4$
Duas ou mais doenças				
clínicas	$72,7 \pm 13,7$	$173,6\pm 12,3^{a}$	$88,0 \pm 12,3$	$69,3 \pm 19,4$
Transtornos Subclínicos				
Hipocalcemia	$78,9 \pm 5,2$	$91,9 \pm 4,4^{c}$	$84,4 \pm 4,7$	$81,7 \pm 5,5$
Cetose	$79,9 \pm 7,1$	$104,7 \pm 5,8^{bc}$	$85,4 \pm 5,8$	$93,7 \pm 7,3$
Hipocalcemia + cetose	$63,5 \pm 8,2$	$103,6 \pm 5,6^{bc}$	$98,5 \pm 7,3$	$82,0 \pm 7,3$
Sem eventos	$72,1 \pm 6,4$	$96,5 \pm 5,5^{c}$	$78,9 \pm 5,6$	$93,3 \pm 6,0$

**Tabela 10.** Média e desvio padrão do escore de condição corporal no período de - 15 a 62 dias em vacas leiteiras com ou sem transtornos clínicos e subclínicos, em duas fazendas leiteiras do Rio Grande do Sul (Brasil).

		ECC (1-5)		
DEL	-15 a 0	6 a 21	22 a 42	43 a 62
Transtornos Clínicos				
RP	$3,50 \pm 0,47$	$2,7 \pm 0,25^{ab}$	$2,4 \pm 0,29^{abc}$	$2,2 \pm 0,47^{abc}$
Mastite	$3,33 \pm 0,38$	$2,2 \pm 0,27^{bc}$	$2,1\pm0,29^{bc}$	$2,2 \pm 0,23^{abc}$
Metrite	$3,16 \pm 0,38$	$2,2 \pm 0,29^{bc}$	$2,0 \pm 0,29^{c}$	$2,0 \pm 0,25^{abc}$
Cetose	$3,50 \pm 0,38$	$2,6 \pm 0,29^{ab}$	$2,1 \pm 0,33^{abc}$	$1,7 \pm 0,29^{c}$
DA	$3,25 \pm 0,33$	$2.8 \pm 0.33^{ab}$	$2,0 \pm 0,27^{c}$	$1,9 \pm 0,29^{bc}$
Duas ou mais doenças				
clínicas	$3,16 \pm 0,38$	$1,5 \pm 0,38^{c}$	$2,0 \pm 0,29^{ab}$	$1,7 \pm 0,38^{bc}$
Transtornos Subclínicos				
Hipocalcemia	$3,30 \pm 0,21$	$2,6 \pm 0,10^{ab}$	$2,5 \pm 0,11^{abc}$	$2,4 \pm 0,11^{ab}$
Cetose	$3,57 \pm 0,17$	$2,7 \pm 0,14^{ab}$	$2,7 \pm 0,13^{a}$	$2,4 \pm 0,13^{c}$
Hipocalcemia + cetose	$3,50 \pm 0,20$	$2,9 \pm 0,14^{a}$	$2,6 \pm 0,18^{ab}$	$2,7 \pm 0,16^{a}$
Sem eventos	$3,60 \pm 0,21$	$3,0\pm0,12^{a}$	$2,7 \pm 0,13^{a}$	$2,6 \pm 0,12^{a}$

# 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A exploração leiteira no sul do Brasil tem apresentado crescimento positivo nos últimos anos motivado pela perspectiva de melhorar o rendimento líquido das fazendas, porém apesar dos esforços dos produtores em melhorar a capacidade produtiva, somente aqueles com espírito empreendedor, utilizando ferramentas da informação e conhecimento tecnológico têm alcançado altas produções.

O estudo de 115 rebanhos que realizam controle leiteiro e empregam melhorias no manejo, revelou que a produção e os componentes químicos do leite são influenciados pelas estações do ano, pelo período de lactação, pelo número de lactações e pelas células somáticas. O inverno foi a estação do ano onde ocorreram as maiores produções de leite e de sólidos totais. As vacas no início da lactação (6 a 60 DEL) e aquelas com dois e três partos foram as mais produtivas. O maior desafio a ser vencido é a diminuição da contagem de células somáticas que se correlacionaram negativamente com a produção e o percentual de lactose.

Para entender como os transtornos clínicos e subclínicos interferem na produção e composição química do leite foram estudadas 119 vacas no período de transição em duas fazendas que utilizam o controle leiteiro. Foi possível concluir que a produção de leite não foi prejudicada pela ocorrência de transtornos clínicos ou subclínicos, salvo em vacas com dois ou mais transtornos clínicos. A baixa produção nesse grupo de vacas esteve relacionada com o balanço energético negativo, diagnosticado através dos indicadores metabólicos AGNE, BHB e ECC. A gordura láctea e o cociente G:P apresentaram-se aumentadas concomitantemente quando ocorreu aumento dos AGNE, BHB e perda acentuada de ECC. A doença que apresentou maior ocorrência foi a hipocalcemia subclínica.

A elevada ocorrência de transtornos clínicos e subclínicos encontrados neste estudo sugere que os médicos veterinários devem investigar rotineiramente as vacas através de indicadores metabólicos e lácteos para que possam estabelecer métodos preventivos que permitam diminuir as perdas na produção e melhorar a qualidade do leite.

#### 6. REFERÊNCIAS COMPLEMENTARES

ANDERSSON, L. Subclinical ketosis in dairy cows. **Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v. 4, p. 233-251, 1988.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis.** 15. ed., Washington, D. C., 1990.

BACHMAN, K. C. Managing milk composition. In: VAN HORN, H., WILCOX, C. Large dairy herd management. Champing: **Dairy Science Association American, Dairy Science Association**. 1992. p. 336-346.

BAJALUK, S.A.B. et al. Efeito de fatores ambientais sobre a produção de leite, percentagem de gordura e percentagem de proteína em vacas da raça Holandesa no estado do Paraná. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36, 1999, Porto Alegre. Anais. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1999. p.36., JR., A.A; MORAES, A.; VEIGA, M.; PELISSARI, A.; DIECKOW, J. Integração lavoura-pecuária: intensificação de uso de áreas agrícolas. Ciência Rural, v. 39, p. 1925-1933, 2009.

BARBANO, D.M. Seasonal and regional variation in milk composition in the US. In: **CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS**. 1990, Ithaca.

BARROS, L. Milk composition: its relations with milk quality and metabolic and nutritional status in dairy herds. **XI Congress of the International Society of Animal Clinical Biochemistry**, Valdivia, 2004. Proceedings, p.23-28.

BARTON, B. A.; JORGENSEN, N. A.; DELUCA, H. F. Impact of prepartum dietary phosphorus intake on calcium homeostasis at parturition. **Journal of Dairy Science**, v. 70, p. 1186–1191, 1987.

BAUMAN, D, E.; DAVIS, C. L. Propionate production in rumen of cows fed either control or low fiber, high grain diets. **Journal of Dairy Science**, v. 54, p. 1282-1287, 1971

BAUMAN, D. E.; GRIINARI, J. K. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annual Review of Nutrition**., v. 23, p. 203-227, 2003.

BAUMGARD, L. H.; MATITASHVILI, E.; CORL, B. A.; DWYER, D. A.; BAUMAN, D. E. Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipid synthesis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 2155-2163, 2002.

BECKETT, S.; LEAN, I.; DYSON, R.; TRANTER, W.; WADE, L. Effects of monensin on the reproduction, health, and milk production of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 1563-1573, 1998.

BIGNER, D. R.; GOFF, J. P.; FAUST, M. A.; BURTON, J. L.; TYLER, H. D.; HORST, R. L. Acidosis effects on insulin response during glucose tolerance tests in Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, 79:2182–2188, 1996.

BONDAN, C (2014). Controle leiteiro. In: *GONZÁLEZ, F.H. D., BERRETA, A. C. R., GUADAGNIN, A. R. I Simpósio Nacional da Vaca Leiteira.* Gráfica da UFRGS, p. 91 – 106.

BARROS, L. Transtornos metabólicos que podem ser detectados por meio do leite. In: González, F.H.D.; Barcellos, J.O.; Ospina, H.; Ribeiro, L.A.O. (eds.) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais.** Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000.

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.

BOUDA, J. G.; QUIROZ-ROCHA, G. F. Acidose ruminal crônica e diagnóstico diferencial de transtornos ruminais. In: GONZÁLEZ, F. H. D., BORGES, J. B., CECIM. (Eds). **Uso de provas de campo e laboratório em doenças metabólicas e ruminais de bovinos.** Porto Alegre, RS, 2000, p. 31-34.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa** nº51 de 18 de setembro de 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa** nº62 de 30 de dezembro de 2011.

BRITO, J.R.F.; PORTUGAL, J.A.B. Panorama da qualidade do leite na região Sudeste: Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. In: **Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos.** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2003. p.47-62.

BUSATO, A.; TRACHSEL, P.; SCHÄLLIBAUM, M.; BLUM, J.W. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 44, p. 205-220, 2000.

BUTLER, W. R.; EVERETT, R. W.; COPPOCK, C. E. The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. **Journal os Animal Science**, v.53, p. 745-751, 1981.

BUTLER, W. R.; SMITH, R. D. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 767-772, 1989.

CARRIER, J.; STEWART, S.; GODDEN, S.; FETROW, J.; RAPNICKI, P. Evaluation and use of three cow side tests for detection of subclinical ketosis in early postpartum cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87. p. 3725-3735, 2004.

CARVALHO, G.F. et al. Milk yield, somatic cell count and physico-chemical characteristics of raw milk collected from dairy cows in Minas Gerais State. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DA MASTITE, 2002, Ribeirão Preto. Anais. Ribeirão Preto: FEPALE, 2002. 1 CD-ROM.

CEBALLO, P. P. Composição do leite: uma perspectiva desde o trópico. In: GONZÁLEZ, F. H. D., PINTO, A. T., ZANELA, M. B., FISCHER, V., BONDAN, C. **Qualidade do leite bovino: variação no trópico e subtrópico**. Passo Fundo: Ed. Universidade de Passo Fundo, 2011. p. 28-53.

CHAMBERLIN, W. G.; MIDDLETON, J. R.; SPAIN, J. N.; JOHNSON, J. C.; ELLERSIECK, M. R.; PITHUA, P. Subclinical hipocalcemia, plasma biochemical parameters, lipid metabolism, postpartum diseases and fertility in postparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 7001-7013, 2013.

CISZUK, P.; GEBREGZIABHER, T. Milk urea as an estimate of urine nitrogen of dairy cows and goats. **Acta Agriculturae Scandinavica**, v. 44, p. 87–95, 1994.

COLES, E. H. **Patologia clínica veterinária**. 3.ed. São Paulo: Manole, 1984. 566p.

CONTRERAS, P. A. Indicadores do metabolismo proteico utilizado nos perfis metabólicos de rebanhos. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.O.; OSPINA, H.; RIBEIRO, L.A.O. (eds.) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais.** Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000.

CORRÊA, M. N.; GONZÁLEZ, F. H. D.; DA SILVA, S. C. **Transtornos metabólicos nos animais domésticos**, Pelotas: Ed. Universitária PREC/UFPEL, p. 431-445, 2010.

DE PETERS, E. J.; CANT, J. P. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: a review. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 2043-2070, 1992.

DORNELLES, L. L. Guerra Farroupilha: considerações acerca das tensões internas, reivindicações e ganhos reais do decênio revoltoso. **Revista Brasileira de História e Ciências Sociais,** v. 2, n. 4, 2010.

DUFFIELD, T.; LEBLANC S.; LESLIE K. Impact of subclinical metabolic disease on risk of early lactation culling. **Journal of Dairy Science,** v. 88(Suppl. 1) p. 199–200. 2005

DÜRR, J. W., FONTANELI, R. S., BURCHARD, J. F. (2000). Fatores que afetam a composição do leite. In: *Cursos de sistemas de produção para gado leiteiro baseado em pastagens sob plantio direto*. Passo Fundo. **Anais**... Embrapa-Trigo.

DÜRR, J. W., FONTANELI, R. S., MORO, D. V. (2001). Determinação laboratorial do leite. In. **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

DÜRR, J.W. Panorama da qualidade do leite na Região Sul (RS). In: BRITO, J.R.F.; PORTUGAL, J.A.B. (Ed.) **Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos.** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2003. p. 9-18.

EICHER, R. Evaluation of the metabolic and nutritional situation in dairy herds: Diagnostic use of milk components. 23rd World Buiatrics Congress, Quebec City, Canada, 2004.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **FAOSTAT.** Disponível em: <a href="http://www.fao.org/docrep/018/i3107e/i3107e00.htm">http://www.fao.org/docrep/018/i3107e/i3107e00.htm</a>. Acesso em: 01 out 2014.

FINAMORE, E. B.; MONTOYA, M. A. Estrutura produtiva da cadeia láctea gaúcha: perspectiva regional do Corede Nordesre. Editora UPF, 2008. p. 152.

FLOSS, L. E. **AGRONEGÓCIO E DESEMVOLVIMENTO "pontos de vista".** Passo Fundo: Passografic, 2013. 328p.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. p.39-141.

FONTANELI, R.S.; FONTANELI, R. Cadeia forrageira para a produção de leite no Rio Grande do Sul. In: FONTANELI, R.S; DÜRR, J.W.; FONTANELI, R. (Ed.) **Sistemas de produção de leite.** Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, 2000. p. 59-85.

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

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

GOFF, J. P.; 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.

GOMES, S. T. Avanços sócio-econômicos em sistemas de produção de leite. In: VILELA, D.; BRESSAN, M.; CUNHA, A. S. Cadeia de lácteos no Brasil: restrições ao seu desenvolvimento. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2001.

GONZÁLEZ, F. H. D. Indicadores sanguíneos do metabolismo mineral em ruminates. In: González, F.H.D., Barcellos, J.O., Ospina, H., Ribeiro, L.A.O. (eds.) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais.** Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000.

GONZÁLEZ, F. H. D. (2001). Composição do leite e hormônios da lactação. In: *Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras*. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

GONZÁLEZ, F.H.D.; CAMPOS, R. O leite como indicador metabólico-nutricional em vacas. **A Hora Veterinária**, v.22, p.36-38, 2003.

GONZÁLEZ, F. H. D., SILVA. S. C. da. **Introdução a bioquímica clínica.** 2ª edição, Editora da UFRGS, Porto Alegre, 2006. p. 364

GRIINARI, J. M.; DWYER, D. A.; MCGUIRE, M. A.; BAUMAN, D. E.; PALMQUIST, D. L.; NURMELA, K.V.V. Trans-Octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 1251-1261, 1998.

GRÜNBERG, W.; CONSTABLE, P. D.; SCHRÖDER, U.; STAUFENBIEL, R.; MORIN, D. E.; ROHN, M. Phosphorus homeostasis in dairy cows with abomasal displacement or abomasal volvulus. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 19, p. 894–898, 2005.

HANSEN, P. J. Estratégias para reduzir os efeitos do estresse térmico na eficiência reprodutiva. In: Cursos novos enfoques na produção e reprodução de bovinos, Uberlândia, 2003. **Anais...** Uberlândia: Conapec, 2003. P 77-97.

HERDT, T. H. Fuel homeostasis in the ruminant. **Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice,** v. 4, p. 213-232, 1988.

HOEKSTRA, J.; VAN DER LUGT, A. W..; VAN DER WERF, L. H. J. et al. Genetic and phenotypic parameters for milk production and fertility traits in upgraded dairy cattle. **Livestock Production Science.** V. 40, p. 225-232, 1994.

HOLMANN, F. Reflexiones sobre la competitividad de distintos modelos de producción de leche en América Latina tropical. In: **VI Congresse Panamericano de La Leche.** Buenos Aires: 1997, p. 91-100.

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

IBGE – **INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA.**Disponível em: <a href="http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/estimativa2014/estimativa\_tcu.shtm">http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/estimativa2014/estimativa\_tcu.shtm</a> >. Acesso em: 02 jan 2015.

JAWOR, P. E.; HUZZEY J. M.; LEBLANC, S. J.; VON KEYSERLINGK, M. A. G. Associations of subclinical hypocalcemia at calving with milk yield, and feeding, rinking, and standing behaviors around parturition in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 1240–1248, 2012.

KICHURA, T.S.; HORST, R.L.; BEITZ, D.C.; LITTLEDIKE, E.T. Relationships between prepartal dietary calcium and phosphorus, vitamin D metabolism and parturient paresis in dairy cows. **The Journal of Nutrition**, v. 112, p. 480–487, 1982.

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

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes.** 3ª ed, Santa Maria, Ed. da UFSM, 2011, p. 216.

KRUG, E. B. **Sistemas de produção de leite: identificação de Benchmarking.** Porto Alegre: Palloti, 2001, 256p.

LOPES, M.A. Informática aplicada à bovinocultura. Jaboticabal: FUNEP, 1997. 82p.

MACHADO, P.F.; PEREIRA, A.R.; SARRIES, G.A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p.1883-1886, 2000.

MACHADO, P.F. et al. Panorama da qualidade do leite na Região Sudeste: São Paulo. In: BRITO, J.R.; PORTUGAL, J.A (Ed.) **Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos.** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2003. p. 39-48.

MARQUES, L.T., BALBINOTTI, M.; FISCHER, V. Variação da composição química do leite de acordo com a contagem de células somáticas. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DE MASTITE, 2, 2002, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: FEPALE, 2002. 1 CD ROM.

MONARDES, H. Controle leiteiro e qualidade do leite. In: BARBOSA, S. B. P., BATISTA, A. M. V., MONARDES, H. **III Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite.** Recife, CCS Gráfica e Editora, 2008, v. 1, p. 115 – 127.

MONARDES, H. Programa de pagamento de leite por qualidade em Quebec, Canadá. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1., 1998, Curitiba. **Anais...** Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 1998. p.40-43.

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

MÜHLBACH, P. R. F. Nutrição da vaca em lactação e a qualidade do leite. In: **SIMPÓSIO DE BOVINOCULTURA DE LEITE,** 2003, Chapecó. Sociedade Catarinense de Médédicos Veterinários – Núcleo Oeste. Disponível em: http://www.nucleovet.com.br/simposio.htm.

MURPHY, J. J.; O'MARA, F. Nutritional manipulation of milk protein concentration and its impact on dairy industry. **Livestock Production Science** v. 35, p 117-134, 1993.

NATINOAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirement of dairy cattle.** Washington DC.: National Academy Press. 2001.

NORO, M.; Cid, T. P.; WAGEMANN, F. C.; ARNÉS, V. V., WITTWER, M. F. Valoración diagnóstica de enzimas hepáticas en perfiles bioquímicos sanguíneos de vacas lecheras. **Rev. MVZ Córdoba,** v.18, p. 3474-3479, 2013.

OETZEL, G. R. Monitoring and testing dairy herds for metabolic diseases. Vet. Clin. Food Anim. Prect., v. 20, p. 651-674, 2004.

OSTRENSKY, A. et al. Fatores de ambiente sobre o escore de células somáticas no leite de vacas da raça Holandesa do Paraná. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE

BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37, 2000, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2000.

OVERTON, T. R.; DRACKLEY, J. K.; OTTEMANN-ABBAMONTE, C. J.; BEAUIEU, A. D.; EMMERT, L. S. C. Substrate utilization for hepatic gluconeogenesis is altered by increased glucose demand in ruminants. **Journal Animal Science.** v. 77, p. 1940-1951, 1999.

PALMQUIST, D. L. et al. Adsa foundation symposium: milk fat synthesis and modification. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 1753-1771, 1993.

PAYNE, J. M., PAYNE, S. **The Metabolic Profile Test.** Oxford University Press, 1987.

PERES JUNIOR, F. et al. Proteína, gordura e lactose em amostras de leite de tanques. In: **REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA,** 39, 2002, Recife. Anais. Recife: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2002. 1 CD-ROM.

PETERSON, A. B., ORTH, M. W., GOFF, J. P., BEEDE, D. K. Periparturient Responses of Multiparous Holstein Cows Fed Different Dietary Phosphorus Concentrations Prepartum. Journal of Dairy Science, v. 88, p. 3582–3594, 2005.

PHILLIPPO, M.; REID, G. W.; NEVISON, I. M. Parturient hypocalcaemia in dairy cows: Effects of dietary acidity on plasma minerals and calciotrophic hormones. **Research in Veterinary Science,** v. 56, p. 303–309, 1994.

PHILPOT, W.N. Importância da contagem de células somáticas e outros fatores que afetam a qualidade do leite. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1., 1998, Curitiba. **Anais...** Curitiba: UFPR, 1997. p. 28-35.

PRYCE, J. E.; COFFEY, M. P.; BROTHERSTONE, S. The genetic relationship between calving interval, body condition score and linear type and management traits in registered Holsteins. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 2664-2671, 2000.

PRYCE, J. E.; ESSLEMONT, R. J.; THOMPSON, R., et al. Estimation of genetic parameters using health, fertility and production data from a management recording system for dairy cattle. **Animal Science**, v. 66, p. 577-585, 1998.

PRYCE, J. E.; VEERKAMP, R. F.; THOMPSON, R.; HILL, W. G.; SIMM, G. Genetic aspect of common health disorders and measures of fertility in Holstein Friesian dairy cattle. **Animal Science**, v. 65, p. 353-360, 1997.

QUIROZ-ROCHA, G. F.; LEBLANC, S. J.; DUFFIELD, T. F.; WOOD, D.; LESLIE, K. E.; JACOBS, R. M. Reference limits for biochemical and hematological analytes of dairy cows one week before and one week after parturition. **Canadian Veterinary Journal**, v. 50, p.383–388, 2009.

RAMOS-NIEVES, J. M.; THERING, B. J.; WALDRON, M. R.; JARDON, P. W.; OVERTON, T. R. Effects of anion supplementation to low-potassium prepartum diets on macromineral status and performance of periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 5677–5691, 2009.

RIBAS, N.P.; ALMEIDA, R.; MARCONDES, E.A. Estudo de alguns fatores de meio sobre as produções de leite, gordura e proteína em vacas da raça Jersey no Estado do Paraná. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36, 1999, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SBZ, 1999 p.159.

RIBAS, N.P. et al. Produção diária de leite, porcentagens de gordura e proteína em vacas da raça Holandesa no Estado do Paraná. **Revista Batavo**, v.8, p.26-33, 2001.

RIBAS, N.P. et al. Sólidos totais em amostras de leite de tanques nos estados de Santa Catarina, Paraná e São Paulo. In: BRITO, J.R.; PORTUGAL, J.A (Ed.) **Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos.** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2003. p.19-26.

SANTOS, F. A. P. Manejo dos sistemas de produção de leite a pasto. In: MARTINS, C. E., BRESSAN, M.; VILELA, D.; CARVALHO, L. de A. **Sustentabilidade de sistemas de produção de leite a pasto e em confinamento.** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2001.

SARGEANT, J. M.; SHUKKEN, Y. H.; LESLIE, K. E. Ontário bulk milk somatic cell count reduction program: progress an outlook. **Journal of Dairy Science**, v.81, n. 6, p. 1545-1554. 1998.

SILVA, C. G.; BONDAN, C.; NETO, A. T.; MACHADO, K. M.; GONZÁLEZ, F.H.D. Composição do leite: estado atual do percentual de sólidos no Rio Grande do Sul. **Veterinária e Zootecnia,** 2013 junho.; (2 Suplemento 1): 257-258

SILVA, C. G.; BONDAN, C.; MACHADO, K. M.; NETO, A. T.; GONZÁLEZ, F.H.D. Estado atual da contagem de células somáticas do leite cru refrigerado do Rio Grande do Sul. **Veterinária e Zootecnia.** 2013 junho.; 20(2 Suplemento 1): 183-184.

SILVA, C. G.; BONDAN, C.; NETO, A. T.; MACHADO, K. M.; GONZÁLEZ, F.H.D. Contagem bacteriana do leite: avalição do leite cru refrigerado produzido no estado do Rio Grande do Sul. **Veterinária e Zootecnia.** 2013 junho.; 20(2 Suplemento 1): 185-186.

SOUZA, M.R. et al. Somatic cell count and physical chemical parameters of individual raw milk from Minas Gerais State – Brazil. In: WORLD CONFERENCE ON ANIMAL PRODUCTION, 9, 2003, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: World Association Production, 2003. 1 CD-ROM.

SWENSON, M.J. **Dukes fisiologia dos animais domésticos.** 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,1988. 799p

TVEIT, B.; LINGAAS, F.; SVENDSEN, M.; SJAASTA, O. V. Etiology of acetonemia in Norwegian cattle. 1. Effect of Ketogenic silage, season, energy level and genetic factor. **Journal Dairy Science**, v. 75, p. 2421-2432, 1992.

VAN SAUN, R. Indicator of dairy cow transition risks: metabolic profiling revisited. In: WITTWER, F.; CHIHUAILAF, R.; CONTRERAS, H. p. 65-77, 2010.

VEIGAS, I. F. P., Barreiras não tarifárias sobre as exportações de leite e laticínios brasileiros. **XLIV** *Congresso brasileiro da Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural*. Fortaleza, 23 a 27 de Julho de 2006. Disponível em: <a href="http://ageconsearch.umn.edu/bitstream/147842/2/517.pdf">http://ageconsearch.umn.edu/bitstream/147842/2/517.pdf</a>. Acessado em 06 jan 2015.

WITTWER F. Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.O.; OSPINA, H.; RIBEIRO, L.A.O. (eds.) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais.** Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000.

WALSH, R.B.; WALTON, J.S.; KELTON, D.F.; LEBLANC, S.J.; LESLIE, K.E.; DUFFIELD, T.F. The effect of subclinical ketosis in early lactation on reproductive performance of postpartum dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p. 2788-2796, 2007.