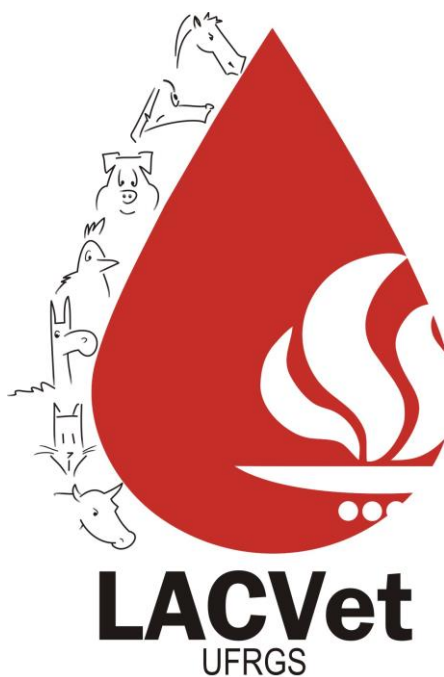


# **Doze leituras em bioquímica clínica veterinária**

Félix González (Editor)

Faculdade de Veterinária

Universidade Federal do Rio Grande do Sul



Porto Alegre, Brasil

2018

D755 Doze leituras em bioquímica clínica veterinária / Félix González, editor. –  
Porto Alegre : Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, 2018.  
vi, 159 p. : il.

Bibliografia no final dos capítulos

Vários autores

ISBN 978-85-66094-39-8

1. Medicina Veterinária 2. Bioquímica 3. Transtornos metabólicos  
4. Doenças metabólicas: diagnóstico I. González, Félix

CDD 636.089

CDU 619:636

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

## **Dedicatória**

A meu amigo e colega, professor Luis Barros (*in memoriam*)

Como sempre, à minha filha Laurita, amor infinito

## **Prefácio**

A presente compilação de leituras em bioquímica clínica veterinária constitui uma seleção de 12 temas extraídos de palestras apresentadas em seminários e simpósios organizados pelo editor durante mais de duas décadas como docente na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. As leituras priorizam o uso de fluidos biológicos e sua composição como ferramentas de diagnóstico em transtornos metabólicos e nutricionais. Agradecimentos são imprescindíveis aos autores das palestras, bem como às pessoas que, à época, foram co-organizadores dos eventos. Especiais agradecimentos aos professores Enrico Ortolani (Universidade de São Paulo), Rómulo Campos (Universidade Nacional da Colômbia), Fernando Wittwer e Pedro Contreras (Universidade Austral do Chile), Luis Barros (Universidade da República, Uruguai), Jan Bouda e Gerardo Quiroz-Rocha (Universidade Autônoma do México).

O editor

Porto Alegre, abril de 2018

## **O editor**

Félix Gonzalez é formado em Medicina Veterinária (Universidade Nacional da Colômbia, 1979), tem mestrado em Fisiologia Animal (Universidade Nacional da Colômbia, 1985), doutorado em Bioquímica Animal (Universidade Federal de Viçosa, Brasil, 1990) e pós-doutorado em Bioquímica Clínica Veterinária (Universidade de Murcia, Espanha, 2007) e em Metabolismo de Bovinos Leiteiros (Universidade de Santiago de Compostela, Espanha, 2012). Foi professor de Bioquímica Veterinária na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Nacional da Colômbia sede Bogotá (1983-1995), onde também atuou como orientador no Programa de Pós-graduação em Saúde e Produção Animal. Desde 1996 é docente de Bioquímica Clínica na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Porto Alegre, Brasil), onde atualmente é Professor Titular. Atua como orientador do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias na área de metabolismo e transtornos metabólicos em animais domésticos, onde já orientou 49 alunos de mestrado e doutorado. Foi professor convidado na Universidade de Los Llanos (Colômbia), na Universidade de Santiago de Compostela (Espanha) e na Universidade Nacional da Colômbia (sedes Bogotá e Medellín). É autor de 12 livros e co-editor em outros 10, e publicou mais de 120 artigos científicos.

## **Autores contribuintes**

- Enrico Ortolani, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo
- Rómulo Campos, Faculdade de Ciências Agropecuárias, Universidade Nacional da Colômbia
- Jean Scheffer, médico veterinário
- Fernando Wittwer, Faculdade de Ciências Veterinárias, Universidade Austral do Chile
- Pedro Contreras, Faculdade de Ciências Veterinárias, Universidade Austral do Chile
- Helga Böhmwald, Faculdade de Ciências Veterinárias, Universidade Austral do Chile
- Luis Barros (*in memoriam*), Faculdade de Veterinária, Universidade da República, Uruguai
- Jan Bouda, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Nacional Autônoma do México
- Gerardo Quiroz-Rocha, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Nacional Autônoma do México

## Conteúdo

1. Diagnóstico e tratamento de alterações ácido-básicas em ruminantes – Enrico Ortolani, 1
2. Indicadores metabólico-nutricionais do leite – Félix Gonzalez & Rómulo Campos, 14
3. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional – Félix Gonzalez & Jean Francisco Scheffer, 30
4. Diagnóstico de doenças nutricionais e metabólicas por meio de exame de urina em ruminantes – Enrico Ortolani, 46
5. Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos – Fernando Wittwer, 58
6. Marcadores bioquímicos no controle de problemas metabólicos nutricionais em gado leiteiro – Fernando Wittwer, 70
7. Uso dos perfis metabólicos no monitoramento nutricional dos ovinos – Pedro Contreras, Fernando Wittwer & Helga Böhmwald, 77
8. Indicadores do metabolismo proteico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos – Pedro Contreras, 83
9. Uso do perfil metabólico para determinar o status nutricional em gado de corte – Félix Gonzalez, 89
10. Uso do perfil metabólico no diagnóstico de doenças metabólico-nutricionais em ruminantes – Félix Gonzalez, 99
11. Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite – Luis Barros, 112
12. Uso de provas de campo e laboratório clínico em doenças metabólicas e ruminais dos bovinos – Jan Bouda & Gerardo Quiroz-Rocha, 128

# 1. Diagnóstico e tratamento de alterações ácido-básicas em ruminantes

*Enrico Lippi Ortolani*  
*Universidade de São Paulo*

Alterações no equilíbrio ácido-básico em ruminantes são relativamente frequentes na rotina do atendimento veterinário, em especial os quadros de acidose metabólica. Por não serem muito reconhecidas e diagnosticadas, essas alterações do equilíbrio ácido-básico não são devidamente tratadas, diminuindo o sucesso das terapias empreendidas. Para melhor entendimento do assunto é necessária uma revisão sobre o assunto.

## **Homeostase do equilíbrio ácido-básico**

Entre as muitas funções que o organismo deve manter em equilíbrio destaca-se a estabilidade do pH dos fluidos corpóreos contidos nos espaços extracelulares, em especial intravascular, e o espaço intracelular. Para tal manutenção o organismo desenvolveu no decorrer da evolução uma série de mecanismos que fazem com que o pH permaneça dentro de limites muito estritos. Em condições normais os ácidos e bases absorvidos ou gerados endogenamente são devidamente tamponados, transformados em outros compostos ou sumariamente eliminados. Entre os órgãos envolvidos no equilíbrio ácido-básico destacam-se os rins, sangue, intestinos, pulmões e fígado.

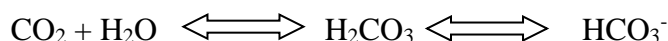
A principal forma de combate na eliminação de ácidos é por meio do tamponamento. Para tal, o organismo utiliza-se de ácidos fracos ou de compostos anfóteros, como a hemoglobina e certas proteínas sanguíneas, também com pH próximo da neutralidade. O tampão mais importante e de primeiro combate é o ácido carbônico, que têm um  $pK^1$  bastante alto (6,1). O ácido carbônico, gerador do bicarbonato é sintetizado endogenamente em vários órgãos do corpo, tais como rins, hemácias, fígado, etc. Contudo, depois de formado, o ácido carbônico tem uma estabilidade muito baixa, permanecendo por poucos segundos, sendo transformado em bicarbonato ( $HCO_3^-$ ) e íon  $H^+$  ou  $CO_2$  e água, dependendo do grau de saturação e da natureza da reação. No esquema

---

<sup>1</sup> O  $pK$  é definido como o valor do pH em que metade do ácido está em forma dissociada, com carga negativa; quanto mais alto for o  $pK$  mais fraco é o ácido.



abaixo descreve-se a sequência destas reações que são catalisadas pela enzima anidrase carbônica:



A tendência e direcionamento destas reações foram estudadas por Henderson e Hasselbalch, quem descreveram uma equação clássica de dissociação dos compostos baseado no seu pH, e na razão do logaritmo da concentração de seu sal e do seu ácido, segundo esquema abaixo:

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \frac{[\text{sal}]}{[\text{ácido}]}$$

$$\text{pH} = 6,1 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}$$

Pelo fato do ácido carbônico ser instável, ele é substituído na equação pela pressão de CO<sub>2</sub> no fluido, a qual deve ser multiplicado pela constante 0,3 para que seja calculada sua concentração. Estas modificações fazem com que a fórmula final seja a seguinte:

$$\text{pH} = 6,1 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[0,3p\text{CO}_2]}$$

Em outras palavras, quanto maior a concentração de bicarbonato no meio, maior será o pH do fluido, ocorrendo o inverso com a pCO<sub>2</sub>. Assim pode-se deparar que em um acúmulo de CO<sub>2</sub> no sangue existirá uma diminuição no pH, o que pode significar biologicamente uma acidose, enquanto que um aumento no teor de bicarbonato representará uma alcalose. Como o pK do ácido carbônico é menor que 7, o bicarbonato terá sua ação maior na correção das acidoses, sendo mais efetivo quanto baixo for o pH do meio. Assim, em acidoses muito severas recomenda-se o uso de bicarbonato para a correção do equilíbrio ácido-básico.

### **Estados de acidose e alcalose: conceitos, causas e efeitos**

Didaticamente, as acidoses e alcaloses podem ser classificadas como metabólicas, respiratórias ou mistas. No caso de diminuição ou aumento do pH sanguíneo, acompanhado de queda ou elevação dos teores de bicarbonato, teremos uma acidose ou alcalose metabólica, respectivamente. Na elevação ou queda da pressão de gás carbônico teremos uma acidose ou alcalose respiratória, respectivamente. Na Tabela 1 são apresentadas a classificação e caracterização sintética dos quadros de acidose e alcalose.

Como a ocorrência de quadros de acidose é muito mais frequente que as alcaloses, o organismo animal se adaptou melhor desenvolvendo mecanismos compensatórios para a correção do primeiro estado.

Tabela 1. Classificação dos desequilíbrios ácido-básicos com os correspondentes efeitos em algumas variáveis gasométricas

<b>Desequilíbrio</b>	<b>pH</b>	<b>pCO<sub>2</sub></b>	<b>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	<b>Excesso ácido-base</b>
Acidose metabólica	↓	↓ (N)	↓	↓
Acidose respiratória	↓	↑	↑ (N)	↑ (N)
Alcalose metabólica	↑	↑ (N)	↑	↑
Alcalose respiratória	↑	↓	↓ (N)	↓ (N)

(N): Normal

### **Acidose metabólica**

A acidose metabólica é causada primariamente por aumento na produção de íons H<sup>+</sup> e por perda de bicarbonato do organismo. A produção excessiva de íons H<sup>+</sup> é muito frequente e pode ser causada por três diferentes situações: (i) geração de ácido láctico, (ii) geração de outros ácidos, e (iii) menor excreção de íons H<sup>+</sup> do organismo e perda de bicarbonato.

Várias condições podem aumentar a produção exógena ou endógena de ácido láctico. Dentre a geração exógena de ácido láctico cita-se a acidose láctica ruminal, surgindo da intensa e rápida fermentação de carboidratos solúvel ingeridos subitamente por animais adaptados ou não. A produção de ácido láctico no rúmen pode aumentar em mais de 200 vezes, e como seu pK é baixo (3,7) faz com que o pH do suco de rúmen caia de 6 a 7 para valores inferiores a 4,0 (Maruta & Ortolani, 2002a, 2002b). Uma parte relativamente pequena deste ácido é absorvida provocando grave quadro de acidose metabólica, que pode levar o animal à morte. Em condições experimentais, o pH do sangue venoso pode diminuir de 7,35 para até 7,0, exaurindo os teores de bicarbonato de 25 para até 10 mM (Exemplo 1). Endogenamente, o ácido láctico pode surgir de quadros de levem ao desencadeamento de processos fermentativos anaeróbicos para a produção de energia. No choque hipovolêmico, devido a um avançado quadro de desidratação, como acontece nas diarreias intensas em especial em neonatos, e nos casos de

endotoxemia, o organismo diminui a circulação sanguínea periférica para órgãos não-vitais, tais como musculatura e pele, gerando a produção excessiva de ácido láctico (Exemplo 2). Outra situação que pode levar a um quadro moderado de acidose metabólica é o exercício físico intenso, oriundo de longas e exaustivas caminhadas. Ainda, o ácido láctico pode ser gerado intensamente em quadros de intoxicação pela amônia (ureia), em que a amônia interfere com a eficiência do ciclo de Krebs aumentando subitamente a fermentação anaeróbica.

A geração de outros ácidos orgânicos, que não o ácido láctico, também ocorre com alguma frequência em ruminantes. A condição mais comum é a cetoacidose presente em ovelhas e cabras com toxemia da prenhez e na acetonemia ou cetose da vaca leiteira. Na primeira enfermidade, a acidose metabólica é muito intensa e é proveniente da formação de corpos cetônicos (acetoacetato e beta-hidroxibutirato) e em menor grau da mobilização de ácidos graxos livres que são compostos bastante ácidos (Exemplo 3). Durante o jejum prolongado, existe uma tendência de ocorrer uma acidose metabólica leve em vacas leiteiras pelo acúmulo de corpos cetônicos e em novilhos pela formação de ácidos graxos livres.

A menor eliminação de íons  $H^+$  pelos rins, como acontece em certas lesões tubulares ou mesmo na anúria, colabora decididamente para a instalação de acidose metabólica. Desidratações severas provocam menor fluxo sanguíneo renal e conseqüentemente menor produção de urina. Quadros diarreicos agudos em bezerros lactentes fazem com que estes animais percam quantidades muito apreciáveis de bicarbonato, chegando a eliminar cerca de 10 vezes a mais a quantidade de tampão pelas fezes (Lewis & Phillips, 1972). Além de bicarbonato e outros eletrólitos importantes, como o sódio, potássio e cloretos, as fezes diarreicas causam depleção de água no organismo, que invariavelmente provocam desidratação. Animais com obstrução esofágica ou com lesões bucais crônicas que cursam com sialorreia continuada podem ter acidose metabólica por perda de bicarbonato salivar.

Frente a uma ação sempre existe uma reação. O organismo acometido por acidose metabólica contra-ataca em duas frentes para diminuir os efeitos de um baixo pH sanguíneo. Os rins aumentam a excreção de íons  $H^+$  pela urina, tornando-a mais ácida, e incrementam a reabsorção de bicarbonato pelos túbulos renais. Por outro lado, pode existir ou não um aumento na frequência respiratória para maior eliminação de  $CO_2$  pelo ar expirado. O quadro clínico resultante de uma acidose metabólica é muito variável de

acordo com a causa primária. Mas chama a atenção a depressão no estado geral, que leva o animal a apresentar um quadro de abatimento, apatia e menor resposta aos estímulos. Nos quadros iniciais também o animal tende a elevar a frequência respiratória. Toda vez que um animal diminui o pH sanguíneo, existe um estímulo ao centro respiratório para aumentar a ventilação, incrementando a frequência respiratória. Porém, quando a acidose metabólica é muito intensa, e o pH atinge valores inferiores a 7,15 o centro respiratório se inibe desencadeando uma hipoventilação, que muitas vezes antecede a morte. A síndrome de desidratação geralmente é acompanhada de acidose metabólica, com o surgimento de sinais variados de acordo com a intensidade do quadro.

### **Acidose respiratória**

Quadros de acidose respiratória são constatados pelo acúmulo de CO<sub>2</sub> na corrente circulatória, devido a uma diminuição na ventilação alveolar, resultando inicialmente numa queda nos teores de O<sub>2</sub> e em seguida um aumento na pressão de CO<sub>2</sub>. Qualquer disfunção que interfira com a ventilação pode causar acidose respiratória, como obstrução respiratória anterior, pneumonias e pneumotórax. Doenças ou drogas anestésicas ou não que interfiram com o centro respiratório, diminuindo a frequência respiratória podem causar retenção de CO<sub>2</sub>. A compensação orgânica na acidose respiratória não é tão eficiente como na acidose metabólica. Mesmo assim, o organismo aumenta a retenção renal de bicarbonato, só que este processo demora alguns dias e é verificado mais em quadros crônicos de acidose respiratória. Animais com acidose respiratória muitas vezes assumem atitude ortopneica, com o pescoço distendido, as pernas anteriores e as narinas bem abertas, podendo ser acompanhado de dispneia, respiração superficial e taquipneia. Em algumas situações pode ser verificada congestão ou cianose das mucosas.

### **Alcalose metabólica**

Pode ser causada por excesso de retenção de bicarbonato, ou maior perda de íons H<sup>+</sup> pelo organismo. Alguns tipos de danos tubulares renais, como o constatado logo em seguida à instalação do quadro de intoxicação pelo cobre em ovinos, podem elevar o pH sanguíneo por acúmulo de bicarbonato (Exemplo 4). Alguns problemas digestivos como a dilatação ou impactação do abomaso, e indigestão vaginal posterior fazem com que o ácido clorídrico tenha um refluxo para o rúmen ou fique sequestrado no órgão não sendo

posteriormente reabsorvido pelo duodeno, diminuindo a quantidade de ânions cloreto e íons  $H^+$  na corrente circulatória. Perdas contínuas de íons  $H^+$  pela urina também têm sido referidas como causadores de alcalose metabólica, em especial quando do uso prolongado de certos diuréticos de atuam na alça de Henle, como a furosemida. Para diminuir o pH sanguíneo, o organismo diminui a ventilação fazendo com que haja um acúmulo de  $CO_2$  no sangue. O quadro clínico é muito variável dependendo do grau de alcalose, podendo ocorrer oligopneia e respiração superficial, depressão no estado geral e intensa apatia.

### **Alcalose respiratória**

É decorrente de quadros que levem o ruminante a hiperventilação por um longo período, como consequência de prolongadas anemias, doenças pulmonares e doença cardíaca congestiva. A compensação é realizada por diminuição na reabsorção de bicarbonato renal o qual se acumula na corrente, levando o organismo a reter também cloreto para manter a eletroneutralidade.

### **Diagnóstico laboratorial**

Deve-se suspeitar de alterações no equilíbrio ácido-básico quando os ruminantes apresentem sinais sugestivos de perda ou sequestro agudo ou crônico de fluidos e eletrólitos; em distúrbios metabólicos em que predominam reações catabólicas, como os que ocorrem na toxemia da prenhez, acetonemia e anorexia prolongada; em quadros respiratórios agudos ou crônicos em se detecte insuficiência respiratória; e em animais com anemia severa. Muitos dos desequilíbrios ácido-básicos trazem poucos transtornos ao organismo, pois são transitórios ou devidamente compensados pelo animal. Contudo, em muitas circunstâncias a correção desse status é fundamental para evitar que haja um colapso ou que coloque em risco a vida, por inibição do centro respiratório ou mesmo da bateria enzimática celular, em especial do sistema sanguíneo, que trabalha em faixa restrita de pH.

A prova laboratorial que mais fornece informações é o exame gasométrico, ou também denominado hemogasométrico, realizado no sangue total heparinizado. O grande empecilho deste exame é o equipamento que é caro e encontrado em algumas faculdades, hospitais e laboratórios clínicos de grande porte. O custo por exame gira em torno de US\$ 20,00 e deve ser realizado em até 2 h após a coleta do sangue, sendo que este deve ser

mantido refrigerado. A coleta de sangue deve ser feita em condições anaeróbicas, fazendo-se a venopunção com agulhas e seringas de insulina. O sangue venoso coletado da jugular pode ser empregado para o diagnóstico de distúrbios metabólicos, e quando se suspeita de alterações respiratórias opta-se por coleta de sangue arterial. Os resultados dos exames gasométricos devem ser corrigidos pela temperatura retal e os teores de hematócrito de cada animal examinado. O hemogasômetro avalia o pH sanguíneo e as pressões de CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> e destes dados o próprio equipamento calcula os teores de bicarbonato, concentração total de CO<sub>2</sub> e teores de excesso de base (EB). O resultado do pH sanguíneo é fornecido com duas ou três casas decimais, com grande precisão. Os valores normais de pH de sangue venoso são cerca de 0,5 ponto mais baixo que o arterial. Este menor valor está ligado aos maiores teores de CO<sub>2</sub> existentes no sangue venoso. Na Tabela 2 encontram-se os valores hemogasométricos de referência de bovinos criados em nosso meio.

Tabela 2. Valores de referência de pH, bicarbonato, excesso de base (EB), total de dióxido de carbono, pressão de dióxido de carbono de sangue venoso e pressão de oxigênio de sangue arterial obtidos de bovinos e ovinos adultos criados em condições brasileiras

<b>Parâmetro</b>	<b>Bovinos</b>	<b>Ovinos</b>
pH	7,29 - 7,40	7,28 - 7,42
HCO <sub>3</sub> (mM)	20 - 29	19 - 25
TCO <sub>2</sub> (mM)	21 - 30	19 - 26
EB (mM)	-2,3 a 3,7	-4,0 a 2,0
pCO <sub>2</sub> (mmHg)	33 - 46	34 - 45
pO <sub>2</sub> (mmHg)	80 - 102	83 - 95

Os teores sanguíneos de bicarbonato e de TCO<sub>2</sub> seguem tendências paralelas, sendo que o primeiro é cerca de 95% do valor da TCO<sub>2</sub>. Quadros de acidose e alcalose metabólica diminuirão e aumentaram os teores de bicarbonato e de TCO<sub>2</sub>, respectivamente. O excesso de base (EB) é medido pela quantidade de ácido clorídrico necessário para atingir o pH 7,4, numa concentração de pCO<sub>2</sub> 40 mmHg e numa temperatura de 37°C. O excesso de base indica indiretamente a quantidade de tampões

existentes dentro do sangue, numa dada temperatura e pressão de dióxido de carbono. Por isso, os valores normais não são zero, mas em torno dele. Quanto mais negativos forem os valores de EB, abaixo dos valores citados na Tabela 1, maior é a perda de reserva de tampões no sangue, em outras palavras, maior o grau de acidose. Inversamente, quão mais positivos forem os valores de EB mais tampões estão se acumulando no sistema, indicando um quadro de alcalose. O EB é importante para o cálculo da quantidade de tampão necessário para se infundir num tratamento de um animal com desequilíbrio ácido-básico, como será visto em seguida.

### **Correção da acidose metabólica**

Feito o diagnóstico clínico ou laboratorial de acidose metabólica, deve-se ser feito o tratamento. Na grande maioria dos casos este quadro é acompanhado de desidratação. O clínico deve decidir se o estado de desidratação é muito mais grave ou não que o desequilíbrio ácido-básico. Geralmente, deve ser prioritária a correção da acidose metabólica, sendo em seguida realizada a infusão de fluidos para combater a hipovolemia. Para tal, injeta-se por via sistêmica quantidades calculadas de tampão suficientes para a elevação do pH do sangue venoso até um patamar mínimo de 7,25. Para calcular a quantidade de tampão necessária para o tratamento, é utilizada a seguinte fórmula clássica:

$$\text{Quantidade de HCO}_3^- \text{ (mM)} = \text{peso vivo (kg)} \times 0,3 \times \text{EB (mM)}$$

Num caso prático de uma vaca pesando 400 kg, com um pH do sangue venoso de 7,18 e com um EB de -15 mM, os seguintes cálculos devem ser feitos:

$$\text{Quantidade de HCO}_3^- \text{ (mM)} = 400 \times 0,3 \times 15 = 1.800 \text{ mM}$$

Ou seja, devem ser infundidos 1.800 mM de bicarbonato. Para evitar complicações, como edema cerebral, recomenda-se infundir por via sistêmica solução isotônica de bicarbonato de sódio com 300 mOsm/L. A solução isotônica deve conter 1,25% de bicarbonato de sódio (12,5 g do sal/L). Porém, na água o bicarbonato e o sódio se dissociam e como ambos são monovalentes (de forma que um mOsm é igual a um mmol), teremos apenas 150 mmol de bicarbonato por litro de solução isotônica, pois os demais 150 mmol serão de sódio. Como nesse caso hipotético da vaca, tem-se que infundir 1.800 mM e um litro de solução contém 150 mmol de bicarbonato, para conhecer o volume a ser infundido divide-se 1.800 por 150, o que dá um total de 12 L de solução isotônica.

Erros de excesso de infusão de bicarbonato podem transformar uma acidose em alcalose metabólica, sendo muito mais difícil de ser corrigida. Assim, desse cálculo inicial desconta-se por precaução 10% a 20%, dependendo da intensidade da acidose, fazendo com este animal receba, em vez de 12 L, cerca de 10 L de solução.

O grande problema prático deste tratamento é como estimar o EB na rotina, com ausência de aparelhos sofisticados, como o de gasometria. Uma das alternativas foi proposta por Ortolani et al. (1997) para tratamento de casos de acidose láctica em bovinos. Os autores induziram experimentalmente esta enfermidade avaliando os resultados gasométricos e de pH da urina, verificando que quando menor era o pH e, principalmente o EB, do sangue, menor era o pH de urina. Esta última variável é muito mais fácil de ser obtida em condições rotineiras. O pH normal urinário geralmente varia de 5,7 a 8,0, sendo que em casos de acidose metabólica este pH chega a cair até no máximo 4,4. Mediante uma equação, é possível estimar o EB por meio do pH urinário:

$$\text{EB (mM)} = -47,4 + 7,42 \times [\text{pH urinário}]$$

Um animal com um pH urinário de 5,0, terá um EB de -10,3 mM, o qual pode ser transposto para fórmula acima. Para se evitar uma intoxicação iatrogênica por bicarbonato e o uso de cálculos mais difíceis para estimar a quantidade de tampão necessária na correção da acidose metabólica, foi realizado um estudo comparativo da eficiência de diferentes tampões (Ortolani et al., 2000). No estudo foram infundidas soluções com iguais quantidades de bicarbonato, DL-lactato, L-lactato, propionato e acetato em bovinos adultos normais, ocorrendo um aumento significativo do pH sanguíneo nos animais tratados com bicarbonato e L-lactato. Num segundo ensaio, foi induzida acidose láctica ruminal em bovinos, os quais foram medicados com iguais doses de bicarbonato ou L-lactato. Ambos tratamentos corrigiram a acidose metabólica de grau médio. O L-lactato é oxidado naturalmente no fígado, consumindo para cada molécula oxidada uma de íon  $\text{H}^+$ . A grande vantagem desta terapia é que o excesso de L-lactato, não causa uma alcalose metabólica, como poderia ocorrer com o bicarbonato. Outra vantagem deste tratamento é a alta velocidade de oxidação do composto, corrigindo a acidose dentro de uma a duas horas após o início do tratamento. Um teste semelhante realizado em bezerros diarreicos demonstrou que o bicarbonato corrige mais rapidamente a acidose metabólica que o L-lactato, embora este tenha também parcialmente corrigido o desequilíbrio ácido-básico (Kasari & Naylor, 1985). Este fato provavelmente ocorra, pois, o bezerro neonato não tem o fígado completamente maturo para oxidar de maneira eficaz o L-lactato.



Infelizmente, ainda não existem no mercado soluções puras de L-lactato. A solução de Ringer-lactato, altamente empregada nos tratamentos veterinários, contém em vez de 150 mM de lactato, como a solução testada, apenas 27 mM (18%). Mesmo assim, em bovinos com acidose láctica ruminal tratados com solução de Ringer-lactato (6 L/100 kg PV) apresentaram certa correção da acidose metabólica, embora inferior à obtida com bicarbonato (Mendes Netto & Ortolani, 2000).

### **Correção da alcalose metabólica**

Diferentemente da acidose metabólica, a alcalose tem um prognóstico mais reservado, pois o organismo tem mecanismos compensatórios menos eficientes para a auto-correção do problema e a terapia tem resultados mais incertos. Devem ser utilizadas na correção da alcalose soluções de sais que contenham ânions tais como o cloreto ou amônio. Entre os sais cita-se o cloreto de sódio, cloreto de potássio e cloreto de amônio. Estes dois últimos sais têm o inconveniente de poderem trazer efeitos colaterais se aplicados em demasia. Assim, recomenda-se a aplicação de 100 a 150 mL/kg PV de solução isotônica de cloreto de sódio (0,9%). Em casos de alcalose metabólica causada por intoxicação iatrogênica por bicarbonato, ocorre elevação no pH urinário podendo chegar até 9,2 devido à maior eliminação renal de bicarbonato. Contudo, em alguns casos de alcalose sistêmica, como nos casos de dilatação do abomaso em que ocorre grave hipocalcemia, pode ocorrer a chamada acidúria paradoxal compensatória, se apresentando alterada até quatro dias após o tratamento cirúrgico da afecção. Nesta afecção, embora o pH sanguíneo esteja elevado, o pH urinário pode estar dentro da faixa de normalidade ou ácido, atingindo até 5,4. A possível explicação é que neste processo se desenvolve intensa desidratação, ocorrendo liberação de aldosterona, a qual aumenta a reabsorção tubular de sódio. O cloreto e o potássio também são bastante reabsorvidos pelos túbulos renais, pois estes elementos encontram-se sequestrados no líquido abomasal. Para cada íon de sódio, cloreto e potássio reabsorvidos há uma secreção concomitante de um íon  $H^+$  aumentando assim a acidez urinária.

### **Correção da acidose respiratória**

O tratamento primário da acidose respiratória é baseado na correção do distúrbio respiratório por meio de antibioticoterapia, uso de anti-inflamatórios e outras drogas

congêneres. Sintomaticamente trata-se o animal por meio de ventilação (inalação) com gases contendo altos  $pO_2$  e baixos de  $pCO_2$  por meio de respiradores mecânicos. Em alguns casos pode ocorrer acidose metabólica concomitante, devido a menor oxigenação nos tecidos periféricos e formação de ácido láctico, e devem ser tratados com pequena quantidade de tampões.

### **Correção da alcalose respiratória**

No caso de hiperventilação, o animal deve ser tratado com um sedativo que provoque a diminuição da frequência respiratória. Além disto, se recomenda colocar o animal temporariamente em um ambiente fechado com pouca renovação de ar, rico em  $CO_2$  para aumentar os teores deste gás no sangue.

### **Referências**

- Kasari, T. R. & Naylor, J. M. (1985). Clinical evaluation of sodium bicarbonate, sodium L-lactate, and sodium acetate for the treatment of acidosis in diarrheic calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 187, 392-397.
- Lewis, L. D. & Phillips, R. W. (1972). Water and electrolyte losses in neonatal calves with acute diarrhea. A complete balance study. *Cornell Vet.*, 62, 596-607.
- Maruta, C. A. & Ortolani, E. L. (2002a). Susceptibilidade de bovinos das raças Jersey e Gir à acidose láctica ruminal. I. Variáveis ruminais e fecais. *Ciência Rural*, 32, 55-59.
- Maruta, C. A. & Ortolani, E. L. (2002b). Susceptibilidade de bovinos das raças Jersey e Gir à acidose láctica ruminal. II. Acidose metabólica e metabolização do lactato-L. *Ciência Rural*, 32, 61-65.
- Mendes Netto, D. & Ortolani, E. L. (2000). Evaluation of sodium bicarbonate or lactated Ringer's solution for treatment of rumen lactic acidosis in steers. *Veterinária Notícias*, 6, 31-39.
- Ortolani, E. L., Mendes Netto, D. & Maruta, C. A. (1997). O uso do pH urinário para estimar o grau de acidose metabólica em garrotes com acidose láctica ruminal. In: *Anais do XXV Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*, Gramado, p.214.
- Ortolani, E. L., Leal, M. L. & Maruta, C. A. (2000). Correção da acidose metabólica sistêmica com uso de soluções de bicarbonato e lactato-L em bovinos com acidose láctica ruminal. In: *Anais do XXVII Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*, Águas de Lindóia, p.17.

## Casos práticos de hemogasometria

*Exemplo 1. Acidose metabólica por formação exógena de ácido láctico no rúmen.*

Quadro hemogasométrico de um novilho com acidose láctica ruminal, induzida experimentalmente a 24 h.

Ácido láctico ruminal (mM) = 87 (VR = 0,1-0,5)

Lactato sanguíneo (mM) = 12,5 (VR = 0,2-2,0)

pH sangue venoso = 7,14

Bicarbonato (mM) = 14

EA (mM) = -9,5

pCO<sub>2</sub> (mmHg) = 43

pH urinário = 5,0

Hematócrito (%) = 43 (VR = 27-35)

Nota-se que a acidose metabólica no caso da acidose láctica ruminal não tem compensação respiratória, ou seja, não tem maior eliminação de CO<sub>2</sub> pois este se encontra dentro dos valores normais no sangue, por outro lado há queda no pH urinário indicando intensa excreção de íons H<sup>+</sup>.

*Exemplo 2. Acidose metabólica por formação endógena de ácido láctico.*

Quadro hemogasométrico de um bezerro com diarreia intensa causada por infecção entérica aguda (rotavirus e *Cryptosporidium parvum*)

Lactato sérico (mM) = 11 (VR = 0,3-0,6)

pH sangue venoso = 7,1

Bicarbonato (mM) = 13,7

EB (mM) = -10

pCO<sub>2</sub> (mmHg) = 46,4

pH urinário = 4,9

Hematócrito (%) = 46 (VR = 28-35)

*Exemplo 3. Acidose metabólica por formação de corpos cetônicos.*

Quadro hemogasométrico de uma ovelha com toxemia da prenhez tipo 2, superalimentada.

Corpos cetônicos (mM) = 5,5 (VR = < 1,0)

Ácidos graxos livres ( $\mu\text{M}$ ) = 800 (VR = 50-200)

pH sangue venoso = 7,02

Bicarbonato (mM) = 8,2

EB (mM) = -17

pH urinário = 4,8

Hematócrito (%) = 46

*Exemplo 4. Alcalose metabólica por menor excreção renal de bicarbonato.*

Quadro hemogasométrico de um ovino com intoxicação acumulativa por cobre, de sangue venoso obtido no 3º dia após o início da hemoglobinúria (Machado & Ortolani, 1998).

Ureia sérica (mM) = 50 (VR = 2-6)

Creatinina ( $\mu\text{M}$ ) = 490 (VR = 70-120)

pH sanguíneo = 7,5

Bicarbonato (mM) = 36

EB (mM) = 8,6

pCO<sub>2</sub> (mmHg) = 48

## 2. Indicadores metabólico-nutricionais do leite

*Félix H. D. González*

*Universidade Federal do Rio Grande do Sul*

*Rómulo Campos*

*Universidade Nacional da Colômbia*

O leite bovino é composto por nutrientes sintetizados na glândula mamária, a partir de precursores sanguíneos filtrados nas células alveolares. Os componentes do leite incluem água, glicídeos (basicamente lactose), gordura, proteína (principalmente caseína e albumina), minerais e vitaminas. O leite é secretado como uma mistura desses compostos e suas propriedades são mais complexas que a soma dos seus componentes individuais. A proporção de cada componente no leite está influenciada, em diferentes graus, pela nutrição e o status metabólico da vaca. A alimentação responde por aproximadamente 50% das variações de gordura e proteínas do leite (Fredeen, 1996). O conhecimento da composição do leite e suas variações é importante para o veterinário no monitoramento dos efeitos da alimentação ou na detecção de transtornos metabólicos. O leite, sendo o fluido mais fácil de coletar na vaca lactante, torna-se uma ferramenta diagnóstica, pois sua composição pode refletir situações presentes no sangue e, portanto, nos tecidos animais.

De forma geral, os fatores metabólico-nutricionais que afetam a composição do leite são: (i) fatores meio-ambientais, que incluem a nutrição (composição da dieta), tipo de alimentação (pastagem, ração, suplementos), manejo (nível de produção) e época do ano, e (ii) fatores intrínsecos aos animais, divididos em genéticos, sanitários, grau de adaptação metabólica e período da lactação (Barros, 2001). O presente trabalho pretende abordar de que forma variações na composição química do leite, fundamentalmente relacionada a gordura, proteínas, ureia e corpos cetônicos, podem indicar diferentes situações nutricionais e metabólicas na vaca leiteira.

### **Composição química do leite**

A composição química do leite pode variar dentro da mesma espécie. Na vaca leiteira, as diferenças são especialmente em gordura e proteína, sendo esses componentes as bases de pagamento diferenciado para os produtores de leite. A gordura nas raças

Jersey e Guernsey é maior que na Holandesa (Tabela 1). A lactose, por outro lado, se mantém praticamente constante entre as diferentes raças. A composição do leite também pode variar entre indivíduos da mesma raça. Por exemplo, a gordura do leite em vacas Jersey, que tem médias de 5,0 a 5,5%, pode variar de menos de 4,0% a mais de 7,0%. Mesmo durante a ordenha, a composição do leite pode variar. A gordura do leite é menor no início da ordenha, aumentando gradualmente em percentagem quando o leite é retirado da glândula. O último leite da glândula é o mais alto em conteúdo de gordura. Este dado é importante quando se coletam amostras de leite para testes, de forma que a melhor amostra está representada pelo leite inteiro coletado durante toda a ordenha.

Tabela 1. Composição química (%) do leite em várias raças bovinas (Jensen, 1995)

<b>Raça</b>	<b>Gordura</b>	<b>Proteína</b>	<b>Lactose</b>	<b>Cinzas</b>	<b>Sólidos totais</b>
Ayrshire	4,1	3,6	4,7	0,7	13,1
Guernsey	5,0	3,8	4,9	0,7	14,4
Holstein	3,5	3,1	4,9	0,7	12,2
Jersey	5,5	3,9	4,9	0,7	15,0
Pardo Suíço	4,0	3,6	5,0	0,7	13,3
Zebu	4,9	3,9	5,1	0,8	14,7

O conteúdo de água no leite, em média 87% na vaca, depende da síntese de lactose. Este é o principal fator osmótico no leite, responsável por 50% desta variável. No processo de síntese, a lactose “atrai” água para as células epiteliais mamárias. Em função da estreita relação entre a síntese de lactose e a quantidade de água drenada para o leite, o conteúdo de lactose é o componente do leite que menos tem variação.

A lactose, principal glicídeo do leite, é um dissacarídeo composto pelos monossacarídeos D-glicose e D-galactose, ligados por ponte glicosídica  $\beta$ -1,4. Outros glicídeos podem ser encontrados no leite, porém em concentrações muito baixas. Pequenas quantidades de glicose livre (cerca de 0,1 mM) e galactose livre (0,2 mM) são encontradas no leite de vaca e de outras espécies.

O componente lipídico do leite é formado por uma complexa mistura, sendo os triglicerídeos os lipídeos mais importantes (98%). A gordura do leite é secretada das

células epiteliais mamárias na forma de glóbulos graxos, principalmente compostos de triglicerídeos rodeados de uma dupla camada lipídica similar à membrana apical das células epiteliais. Esta membrana ajuda a estabilizar o glóbulo de gordura formando uma emulsão dentro do ambiente aquoso do leite. A Tabela 1 mostra que a gordura é o componente mais variável do leite. Nos padrões atuais de consumo, tem sido dada mais importância a baixos teores de gordura e altos teores de proteína do leite. Nos ruminantes, a proporção de ácidos graxos de cadeia curta e insaturados é bem maior que nos monogástricos. Os precursores dos ácidos graxos sintetizados no tecido mamário incluem glicose, acetato e  $\beta$ -hidroxibutirato. Entretanto, alguns ácidos graxos provenientes da dieta ou do metabolismo ruminal e intestinal são incorporados à glândula mamária a partir do sangue. Aproximadamente 25% dos ácidos graxos do leite são derivados da dieta e 50% do plasma sanguíneo. O resto é elaborado na glândula mamária a partir de precursores, principalmente de acetato. Os ácidos graxos de cadeia média (8-12 C) são característicos do leite não sendo possível encontrá-los em outros tecidos (Tabela 2).

Tabela 2. Conteúdo de ácidos graxos (% molar) nos triglicerídeos do leite de vaca

<b>Ácidos graxos</b>	<b>Conteúdo</b>
Butírico	10
Capróico	3
Caprílico	1
Cáprico	2
Láurico	3
Mirístico	9
Palmítico	21
Esteárico	11
Oléico	31
Linoléico	5
Outros	4

A composição proteica total do leite reúne várias proteínas específicas. Dentro das proteínas do leite, a mais importante é a caseína, que perfaz cerca de 85% das proteínas lácteas. Existem vários tipos identificados de caseínas ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\kappa$ ) todas similares na sua

estrutura (Tabela 3). As caseínas se agregam formando grânulos insolúveis chamados micelas. As demais proteínas do leite estão em forma solúvel. As micelas de caseína contêm também água e minerais, principalmente cálcio e fósforo. A caseína é um dos mais abundantes componentes orgânicos do leite, junto à lactose e à gordura. As moléculas individuais de caseína não são muito solúveis no ambiente aquoso do leite. No entanto, os grânulos da micela de caseína mantêm uma suspensão coloidal no leite. Se a estrutura micelar se perde, as micelas se dissociam e a caseína fica insolúvel, formando o coalho.

Tabela 3. Conteúdo de frações de proteína (%) no leite de vaca

<b>Fração proteica</b>	<b>Conteúdo no leite desnatado</b>
Caseína $\alpha$	45-55
Caseína K	8-15
Caseína $\beta$	25-35
Caseína $\gamma$	3-7
$\alpha$ -Lactalbumina	2-5
$\beta$ -Lactoglobulina	7-12
IgG <sub>1</sub>	1-2
IgG <sub>2</sub>	0,2-0,5
IgM	0,1-0,2
IgA	0,05-0,10

As principais proteínas do soro do leite de vaca são a  $\beta$ -lactoglobulina e a  $\alpha$ -lactalbumina. A  $\alpha$ -lactalbumina corresponde a 2-5% do total de proteínas e funciona como uma das subunidades da enzima lactose-sintetase. Outras proteínas do leite incluem a  $\beta$ -lactalbumina (7-12%), albumina sérica (1%) e as imunoglobulinas G, M e A (1,3-2,8%). A função da  $\beta$ -lactoglobulina não se conhece. As proteínas do soro também incluem uma longa lista de enzimas, hormônios, fatores de crescimento, transportadores de nutrientes e fatores de resistência a doenças, entre outros. Os precursores para a síntese das proteínas do leite são aminoácidos livres do sangue em 90% e proteínas séricas em 10%.



Os principais minerais encontrados no leite são cálcio e fósforo. Eles estão basicamente associados com a estrutura das micelas de caseína. Consequentemente, o soro tem relativamente pouco cálcio e fósforo, comparado com o leite inteiro. O leite também contém pequenas quantidades da maioria dos demais minerais encontrados no organismo animal. A glândula mamária não pode sintetizar vitaminas. Portanto, para sua secreção no leite depende do aporte sanguíneo. As vitaminas podem ser sintetizadas pelas bactérias do rúmen ou podem ser convertidas na forma ativa a partir de pró-vitaminas no fígado, intestino delgado e pele ou proceder diretamente dos alimentos. O leite contém todas as principais vitaminas. As vitaminas lipossolúveis A, D, E e K são encontradas basicamente na gordura do leite, porém com limitadas quantidades de vitamina K. Outros componentes do leite incluem importantes metabólitos de excreção, como é o caso da ureia, produto do catabolismo dos aminoácidos. Também, o aumento sanguíneo de alguns metabólitos por desordens metabólicas, pode causar aumento no leite. Assim, em estado de cetose, podem aparecer corpos cetônicos, principalmente o beta-hidroxibutirato.

## **Fatores nutricionais que afetam a composição química do leite**

### ***Composição da gordura***

Considera-se a gordura como o componente do leite que maior variação sofre em função da alimentação, podendo variar em até 3 pontos percentuais. Os fatores nutricionais que mais afetam o teor de gordura do leite são o aumento de concentrado na dieta, a quantidade e o tamanho da fibra e a adição de tamponantes e compostos ionôforos. Existem fatores não nutricionais que envolvem a raça, o estágio de lactação, o volume total de leite produzido, entre outros. A Tabela 4 resume os principais fatores que afetam o conteúdo de gordura no leite.

### ***Proporção de concentrado na dieta***

A utilização de concentrados na dieta de vacas leiteiras tende a reduzir o conteúdo de gordura no leite de forma proporcional. A fermentação ruminal a base de glicídeos rapidamente fermentáveis, como é o caso do amido, substrato abundante na composição de concentrados, leva a uma maior produção de propionato do que de acetato e butirato. Destes ácidos graxos voláteis, o primeiro é precursor de glicose e os dois últimos são

precursores de ácidos graxos que compõem a gordura. Este efeito começa a ser notado quando a relação acetato/propionato no rúmen cai para 2,2. Griinari et al. (1998) mostraram que quando a dieta para vacas leiteiras aumenta de uma proporção de 50% para 80% de concentrado, o teor de gordura no leite passa de 3,36% para 2,49%.

Tabela 4. Principais fatores que afetam o conteúdo de gordura no leite (Carvalho, 2000)

<b>Fatores que aumentam o teor de gordura</b>	<b>Fatores que diminuem o teor de gordura</b>
Baixa produção de leite	Alta proporção de concentrados na dieta
Estágio avançado na lactação	Baixo teor de FDN efetiva (<21% da MS)
Alto teor de fibra na dieta (FDN>35%)	Alto teor de carboidratos não estruturais na dieta
Fornecimento de gordura protegida	Alto teor de gordura insaturada na dieta
Inclusão de tamponantes na dieta	Utilização de ionôforos
Perda de peso no início da lactação	Alimentos muito moídos ou de rápida degradação

#### *Quantidade e tamanho da fibra na dieta*

A quantidade de fibra está relacionada com a manutenção do pH ruminal (6,0-7,0) devido ao estímulo que exerce sobre a secreção de saliva, a qual é rica em bicarbonato e favorece o efeito tamponante. O pH nesse intervalo favorece o crescimento de bactérias celulolíticas do rúmen, responsáveis pela produção de ácido acético, precursor de ácidos graxos. O tamanho da partícula de fibra tem efeito sobre o estímulo de ruminação e, portanto, sobre a secreção de saliva. A fibra não deve ser moída em partículas menores de 0,6 cm porque diminui o estímulo da ruminação. O teor de fibra adequado em dietas para vacas deve ser de 28% (FDN). Quantidade de fibra muito elevada na dieta pode causar aumento na porcentagem de gordura do leite, mas pode diminuir a produção total de gordura por diminuição da energia total da dieta.

### *Adição de gordura na dieta*

A adição de gordura na dieta de vacas leiteiras pode aumentar a produção total de leite em função do aumento da densidade energética da ração. Porém, pode diminuir o teor de gordura do leite, explicado pela redução da digestibilidade da fibra devido a um bloqueio físico, e a conseqüente queda na produção de ácido acético. A diminuição no teor de gordura é maior quando se utilizam óleos vegetais, que contêm maior proporção de ácidos graxos insaturados, do que quando se usa gordura animal (sebo).

### *Uso de aditivos na ração*

Compostos tamponantes (exemplo bicarbonato de sódio) minimizam a queda do pH ruminal em dietas com alta proporção de concentrados, mantendo a produção de ácido acético e evitando a diminuição no teor de gordura no leite. Outros aditivos, como a monensina (ionôforo), têm o efeito de aumentar a produção de ácido propiônico no rúmen por inibir bactérias celulolíticas, diminuindo assim o teor de gordura no leite, embora causem aumento da produção total de leite.

### *Composição da proteína*

A proteína é o segundo componente do leite que varia em função da alimentação, depois da gordura. A diferença entre raças não é tão notória quanto à de gordura (Tabela 1) O consumo limitado de alimento ou com baixo conteúdo de proteína e/ou energia na dieta é o principal efeito que causa diminuição do teor de proteína no leite. A adição de gordura pode causar diminuição e a de aminoácidos essenciais aumento de proteína láctea em vacas de alta produção. Fatores não nutricionais, como estágio da lactação e stress térmico, também afetam o teor de proteína no leite. A Tabela 5 resume os principais fatores que afetam a quantidade de proteína no leite.

### *Proporção de concentrado na dieta*

A utilização de maior quantidade de concentrado na dieta aumenta o teor de proteína no leite, por aumentar a produção de propionato no rúmen. Em geral, dietas mais energéticas e que produzam maior quantidade de precursores de glicose, levam a aumentar a produção total de leite e o teor de proteína do leite.

Tabela 5. Fatores que afetam o conteúdo de proteína no leite (Carvalho, 2000)

<b>Fatores que aumentam o teor de proteína</b>	<b>Fatores que diminuem o teor de proteína</b>
Baixa produção de leite	Baixo consumo de matéria seca
Estágio avançado na lactação	Falta de proteína degradável (< 60% da PB)
Baixo teor de gordura no leite (< 2,5%)	Falta de proteína solúvel (< 30% da PB)
Adequação de lisina e metionina	Falta de carboidratos não estruturais (< 30%)
Alto teor de carboidratos não estruturais	Fornecimento de gordura adicional
Inclusão de niacina e ionóforos na dieta	Excesso de fibra na dieta
Fornecimento de forragem de alta qualidade	Stress térmico

#### *Adição de gordura na dieta*

Maior quantidade de gordura na dieta causa menor quantidade de glicídeos a disposição dos micro-organismos do rúmen, que não conseguem utilizar os lipídeos como fonte de energia. Isto acaba gerando menor produção de proteína microbiana ruminal e, portanto, menor teor de proteína no leite.

#### *Uso de aditivos na ração.*

Ionóforos e outros aditivos conhecidos como modificadores ruminais provocam maior produção de propionato e de proteína microbiana, o que favorece o aumento de proteína no leite.

#### *Quantidade de proteína da dieta*

Em situações de baixo aporte de proteína, um aumento de proteína degradável na dieta pode aumentar a produção total de proteína do leite por aumentar a quantidade total de leite produzido. Em situações de aporte adequado de proteína, este efeito não é observado. Em vacas de alta produção, onde existe uma alta demanda de proteína para síntese no leite, a adição suplementar de proteína não degradável contendo lisina e metionina é favorável para aumentar o teor de proteína do leite.

### ***Composição da lactose***

A lactose praticamente não é alterada por variações nutricionais, a menos que ocorra severa desnutrição. Uma vez que a lactose está relacionada com a regulação da pressão osmótica na glândula mamária, maior produção de lactose determina maior produção de leite, com o mesmo teor de lactose (Peres, 2001).

### **Efeito do estresse térmico na composição do leite**

O estresse térmico ocasiona diminuição do volume total de leite e dos teores de sólidos totais, de proteína e de gordura (Kadzere et al., 2002). No estresse calórico aumenta a frequência respiratória levando a uma moderada alcalose respiratória. Como mecanismo compensatório, ocorre perda de bicarbonato pelo rim, diminuindo a quantidade deste tampão na saliva. Assim, o pH ruminal sofre uma queda (acidose) levando a uma menor proporção de acetato ruminal. O calor também provoca diminuição no consumo de alimento e, portanto, de fibra, principal estimulador da ruminação e da produção de saliva, fato que aumenta o efeito diminuidor de pH ruminal. As vacas de alta produção são mais afetadas devido a que o mecanismo de termo-regulação nesses animais está afetado pelo aumento de calor metabólico.

### **Fatores metabólicos que afetam a composição química do leite**

A importância econômica da produção de leite com altas exigências de qualidade e o aumento na incidência de enfermidades metabólicas nas vacas de alta produção, especialmente no início da lactação, fazem com que sejam necessários métodos analíticos rápidos, econômicos e seguros que possam testar mudanças na composição do leite (lactose, gordura, proteínas), ou a presença de metabólitos que possam informar sobre doenças metabólicas (beta-hidroxibutirato, acetona, fosfato, potássio) ou que possam indicar alterações na barreira sangue-leite que, em geral, indicam alteração na fisiologia da glândula mamária. Tais métodos são agora conhecidos como perfil metabólico no leite (Hamman & Krömker, 1997). Na Tabela 6 apresentam-se tipos de desordens metabólicas associadas com alta produção do leite e o indicador possível no leite.

Os principais componentes sintetizados pela glândula mamária são proteínas (caseína, lactalbumina, lactoglobulina), lactose e ácidos graxos. Adicionalmente, o leite

contém outros compostos derivados diretamente da dieta, tais como vitaminas, minerais e ácidos graxos de cadeia longa. Outros compostos presentes no leite, como ureia e corpos cetônicos, são produtos da difusão na glândula e estão presentes em quantidades variáveis, não sendo dosados de forma rotineira (Fredeen, 1996).

Tabela 6. Doenças metabólicas e indicadores metabólicos no leite

<b>Estado metabólico</b>	<b>Componente</b>	<b>Nível normal</b>	<b>Nível de alerta</b>
Deficiência de energia	Acetona *	2,0	> 3,0
	$\beta$ -hidroxibutirato *	0,5-1,0	> 1,2
	Citrato *	7,8	> 9,4
	Relação G/P**	1,2	> 1,25
Deficiência de proteína	MUN***	10-16	< 9,0
Excesso de proteína	MUN***	10-16	> 18
Alcalose	Potássio *	44,1	> 44,76
	Sódio *	30	> 32,61
Acidose	Potássio *	44,1	< 43,85

\* mmol/L; \*\* gordura/proteína; \*\*\* Nitrogênio ureico no leite (mg/dL)

### **MUN e o metabolismo do nitrogênio**

Tradicionalmente, a porcentagem de proteína crua no leite tem sido estimada como total de nitrogênio determinado pelo método de Kjeldahl multiplicado pelo fator 6,38. Esta aproximação assume que o total de proteínas no leite contém 15,7% de nitrogênio. A ureia é o maior produto do metabolismo nitrogenado nos mamíferos. Embora a maior parte da ureia seja excretada na urina, uma parte se difunde livremente do sangue e sai no leite, recebendo o nome de MUN (nitrogênio uréico no leite). Atualmente, a dosagem de MUN tem tomado muita força devido a duas razões: (i) a proposta de usar o MUN como indicador do status nutricional protéico e da eficiência da utilização do nitrogênio em vacas do leite, e (ii) a possibilidade da sua dosagem rápida através de método enzimático-colorimétrico, que permite dosar um grande número de amostras em pouco tempo, critério usado pelos serviços de controle leiteiro no mundo (Kauffman & St-Pierre, 2001).

A concentração de ureia no sangue tem sido empregada como indicador do metabolismo proteico e do aporte proteico da ração, em uso rotineiro nos perfis metabólicos (González et al., 2000). A ureia é sintetizada no fígado em quantidades proporcionais à concentração de amônia produzida no rúmen. Daí sua importância no controle nutricional nos ruminantes (DePeters & Cant, 1992). A concentração de MUN está diretamente relacionada com a concentração de BUN (nitrogênio ureico no sangue), mas este é afetado por múltiplos fatores os quais incluem os níveis de proteína crua na dieta, a relação proteína:energia e o momento da coleta das amostras em relação com os processos digestivos. A concentração de ureia no leite não está ligada a regulação de mecanismos homeostáticos e está menos afetada por variações pós-prandiais, de forma que a dosagem de MUN pode ser melhor indicador do balanço protéico que o BUN (Campos, 2002). Em forma prática, para coletar um grande número de amostras, é preferível o leite ao sangue (Kauffman & St-Pierre, 2001; Wittwer et al., 1993). Também é possível usar MUN para avaliar os níveis circulantes de ureia e conhecer indiretamente o nitrogênio urinário (UN) a partir da equação sugerida por Jonker et al. (1998):

$$\text{UN (g/dia)} = 12,54 \times \text{MUN (mg/dL)}$$

Os níveis de referência de MUN estão entre 10 a 16 mg/dL, equivalentes a 21,4 a 34,2 mg/dl de ureia (1 mol de MUN = 2,14 moles de ureia). Quando o MUN está elevado em um animal, é evidente que a proteína está sendo utilizada em forma ineficiente. Quando os valores são baixos (menos de 9 mg/dL de MUN) a informação permite reconhecer que os níveis de proteína na dieta são inadequados (Campos, 2002). As técnicas para dosagem de proteínas por espectrofotometria de infravermelho não incluem a medição da fração de nitrogênio não protéico. Portanto, a leitura por separado do MUN tem que ser diferencial. Frente à qualidade do leite, a maior valor de MUN, menor a concentração de caseína, com a respectiva queda do potencial de industrialização do leite no processamento de queijos (Ospina et al., 2001).

A composição protéica específica do leite é de interesse da indústria láctea. O consumo de queijo no mundo duplicou na última década e a produção do derivado lácteo depende totalmente da presença de caseína no leite. As caseínas constituem entre 76 a 86% do total de proteína no leite. Existem atualmente métodos precisos de identificação das frações de caseína, assim como técnicas de engenharia genética para induzir a síntese direcionada de  $\kappa$ -caseínas de maior rendimento na industrialização de queijos (DePeters & Cant, 1992).

## Corpos cetônicos

O leite vem sendo usado para o diagnóstico de cetose nas vacas. A cetose é uma das doenças metabólicas que se desenvolve sem um rápido e seguro diagnóstico, já que a maioria dos casos é de tipo subclínico, podendo chegar até 34% dos casos, enquanto que os casos clínicos chegam apenas a 7% (González & Silva, 2002). A cetose é uma doença relativamente comum em vacas de alta produção, com apresentação mais freqüente em vacas multíparas que em primíparas. Em geral, sua apresentação ocorre entre 8 a 60 dias pós-parto, período quando o animal exibe balanço energético negativo (BEN). A cetose afeta significativamente a produção do leite e a reprodução, causa queda na imunidade e está associada com o aumento na freqüência de deslocamento de abomaso (Enjalbert et al., 2001). A cetose se deve ao acúmulo anormalmente elevado de corpos cetônicos no sangue devido a anormalidades do metabolismo energético. Basicamente ocorre pela mobilização de tecido adiposo como fonte de energia acompanhado de uma depleção do ciclo de Krebs, em que se acumula acetoacetato e beta-hidroxibutirato. Os pKs desses ácidos permitem aumentar a concentração de íons  $H^+$  no plasma. A cetose caracteriza-se por hipoglicemia e cetoacidose.

Os corpos cetônicos são solúveis no plasma e não requerem de proteínas transportadoras, ultrapassam facilmente a glândula mamária e sua dosagem pode ser feita no leite. Os valores médios de corpos cetônicos no leite têm alta correlação com os corpos cetônicos circulantes no plasma (Geishauser et al., 2000). Clinicamente, o beta-hidroxibutirato é o corpo cetônico usado para a detecção da cetose. Considera-se que valores no plasma acima de 1,2 mM são indicativos da doença, discriminando entre animais sadios e com cetose subclínica. Mas as dificuldades e o custo da sua dosagem no sangue, fizeram com que fossem desenvolvidas técnicas semiquantitativas para sua avaliação no leite. Geishauser et al. (2000) apresentam um amplo estudo no qual avaliaram 8 diferentes testes para a detecção de cetose subclínica, obtendo êxito em pelo menos quatro deles. No estudo foram testadas tiras ou tabletes tanto no leite como no sangue para detectar acetoacetato,  $\beta$ -hidroxibutirato e acetona. A dosagem de beta-hidroxibutirato no leite mostrou sensibilidade e especificidade na detecção de cetose em vacas de leite, recomendado-se seu uso rotineiro em vacas leiteiras.



## **Acidose ruminal**

A acidose ruminal é provocada por erros na alimentação, quando ocorre consumo excessivo de glicídeos facilmente fermentescíveis sem período de adaptação prévio. Está caracterizada por uma queda no pH ruminal, que cursa com um quadro clínico agudo de desidratação e morte. Sua manifestação clínica aguda ocorre poucas horas após a ingestão de alimentos. Entretanto, mais frequentemente é observada a forma subclínica, menos grave, que tem importância econômica por causar queda na produção e alterações na composição do leite do leite (Barros, 2001). Dentre os alimentos com maior risco de causar acidose ruminal estão os grãos, particularmente trigo, cevada e milho que têm alto conteúdo de amido, as frutas e as farinhas. Uma dieta com baixa fibra e mais glicídeos solúveis estimula o crescimento de micro-organismos amilolíticos às expensas dos celulolíticos. A queda de pH no rúmen favorece o crescimento de bactérias gram-positivas e o desaparecimento de protozoários. O aumento de *Streptococcus bovis* e *Lactobacillus* sp. modificam o substrato ruminal, tornando o meio cada vez mais ácido. A fermentação causada por essas bactérias aumenta fortemente a concentração de ácido láctico, diminuindo o acetato e o  $\beta$ -hidroxibutirato.

O acúmulo de ácido láctico no rúmen aumenta a pressão osmótica intra-ruminal forçando a passagem de água do compartimento vascular para o rúmen e causando desidratação. O ácido láctico ainda é absorvido provocando acidose sanguínea. Os efeitos da acidose ruminal causam aumento do ácido propiônico, efeito insulínico que favorece a lipogênese, diminuição de ácido acético, diminuição da biohidrogenação de C<sub>18:2</sub> pelo baixo pH no rúmen e inibição da síntese de AG-*trans*-insaturados (C<sub>18:1</sub>) na glândula mamária por sua elevada quantidade circulante. Como consequência dessas mudanças há uma diminuição do teor de gordura no leite, que foi chamada por Engvall (1980) de síndrome de baixa gordura do leite.

## **Futuro da qualidade do leite**

A produção eficiente do leite com alto grau de controle sobre a qualidade e a ausência de antibióticos ou de qualquer produto químico contaminante serão pontos críticos para garantir competitividade no mercado globalizado do leite (Bachman, 1992). Atualmente nem todas as técnicas estão prontas para detectar o grande universo de substâncias que farmacologicamente são usadas na clínica da glândula mamária, levando

em conta que o controle da mastite é um desafio permanente. Na medida que novos fármacos apareçam, novas técnicas para sua determinação no leite deverão ser desenvolvidas. Mas, com certeza absoluta, não será possível comercializar o leite com traças de antibióticos pelo alto risco sobre a saúde da população e porque a presença de antibacterianos no leite altera os rendimentos industriais (Dürr, 2002). Desde que os sistemas de infravermelho (NIRS) apareceram no mercado, grandes avanços têm sido feitos. No futuro próximo, a indústria de equipamentos leiteiros, em especial os produtores de máquinas de ordenha, colocará no mercado aparelhos com leitura *on-line* para a contagem de células somáticas, diferenciando cada um dos quartos mamários. Este fato permitirá o controle rápido da mastite, já que seu diagnóstico será imediato. Medidas de manejo nas fazendas poderão ser implantadas, tais como tratamento individual, mudanças na linha de ordenha e câmbios gerais sobre o manejo alimentar, uma vez que poderão ser conhecidos, na hora, a composição do leite e o estado de saúde da glândula mamária. Assim, os controles leiteiros como hoje são trabalhados (dosagem mensal) terão de mudar sua concepção de serviço (Whyte et al., 2000).

Visando o melhoramento da qualidade do leite, atualmente existem duas estratégias usadas pelos geneticistas para alterar a composição do leite: a seleção assistida, que envolve o uso de marcadores moleculares, geralmente genes sequenciados e conhecidos para o melhoramento de características desejáveis (exemplo, níveis de  $\kappa$ -caseína) e a análise da informação que permita identificar os genes que participam na produção e qualidade do leite. Estes estudos se fazem mediante medições da expressão gênica. As duas áreas requerem de tecnologia e aplicações da biologia molecular (transgênese) e de facilidades na informática para o uso de programas de genética quantitativa (Kennelly et al., 2002). O mapeamento do genoma bovino e a localização de genes economicamente importantes, comumente estudados mediante técnicas de biologia molecular, tais como QTL (*Quantitative Trait Loci*), EST (*Expressed Sequence Tags*), SNP (*Singel Nucleotide Polymorphism*), RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), provas feitas quase sempre a partir de bibliotecas de cDNA, têm permitido avanços na modificação da composição do leite, especialmente no referente a fenótipos de  $\kappa$ -caseína e  $\beta$ -lactoglobulina, frações proteicas que dão ao leite melhores propriedades na industrialização.

Nos próximos anos algumas perguntas sobre o controle da expressão genética poderão ser resolvidas. O uso da tecnologia molecular poderá informar sobre qual dos

15.000 genes que podem expressar-se em cada célula mamária é importante no controle da composição do leite, e como pode ser modificada a secreção procurando benefícios para a saúde dos consumidores e para a indústria láctea (Kennelly et al., 2002). As mudanças esperadas gerarão controle sobre a qualidade do leite e das doenças metabólicas que afetam a qualidade do leite, e sobre a relação nutrição-composição do leite. Estas possibilidades farão que o leite seja um produto de alta competitividade no mercado. Aqueles países que desenvolvam sistemas especializados e que invistam na pesquisa diferenciada poderão manter sua opção no mercado mundial.

## Referências

- Bachman, K. C. (1992). Managing milk composition. In *Large dairy herd management*. (p. 336-346). Champaign, USA: Van Horn & Wilcox Editors.
- Barros, L. (2001). Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite. In Gonzalez, F.H.D., Dürr, J. & Fontaneli, R.S. (eds.) *Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras*. Porto Alegre, Brasil: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Campos, R. (2002). Alguns indicadores metabólicos no leite para avaliar relação nutrição:fertilidade. In *Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluídos corporais*. 29º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Gramado, p.40-48.
- Carvalho, M. P. (2000). Manipulando a composição do leite: gordura. In *I Curso on-line sobre qualidade do leite*. Milkpoint.
- Carvalho, M. P. (2000). Manipulando a composição do leite: proteína. In: *I Curso on-line sobre qualidade do leite*. Milkpoint.
- Depeters, E. J. & Cant, J. (1992). Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: a review. *J.Dairy Sci.*, 75, 2043-2070.
- Dürr, J. (2002). Resíduos de antibióticos  $\beta$ -lactâmicos no leite cru produzido no Rio Grande do Sul. In *2º Congresso panamericano de qualidade do leite e controle de mastite*. Riberão Preto.
- Engvall, A. (1980). Low milk fat syndrome in Swedish dairy cows. *Acta vet. Scan.*, suppl.72, 1-124.
- Enjalbert, F., Nicot, M. C., Bayourthe, C. & Moncoulon, R. (2001). Ketone bodies in milk and blood of dairy cows: relationship between concentrations and utilization for detection of subclinical ketosis. *J. Dairy Sci.*, 84, 583-589.
- Fredeen, A. H. (1996). Considerations in the nutritional modification of milk composition. *Animal Feed Science and Technology*, 59, 185-197.
- Geishauser, T., Leslie, K. E., Kelton, D. F. & Duffield, T. (1998). Evaluation of eight cowside test for use with milk to detect subclinical ketosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 81, 438-443.

- Gonzalez, F. H. D., Barcellos, J. O., Ospina, H. & Ribeiro, L.A. (2000). *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Porto Alegre, Brasil: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Griinari, J. M., Dwyer, D. A., McGuire, M. A. et al. (1998). Trans-octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, *81*, 1251-1261.
- Hamann, J. & Krömker, V. (1997). Potential of specific milk composition variables for cow health management. *Livestock Production Science*, *48*, 201-208.
- Jensen, R.G. (1995). *Handbook of milk composition*. San Diego, USA: Academic Press.
- Jonker, J. S., Kohn, R. A. & Erdman, R. A. (1998). Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, *81*, 2681-2692.
- Kadzere, C. T., Murphy, M. R., Silanikove, R. & Maltz, E. (2002). Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livestock Prod. Sci.*, *77*, 59-91.
- Kaufman, A. J. & St-Pierre, N. R. (2001). The relationship of milk urea nitrogen to urine nitrogen excretion in Holstein and Jersey cows. *J. Dairy Sci.*, *84*, 2284-2294.
- Kennelly, J. J., Glimm, D. R. & Ozimek, L. (2000). *Milk composition in the cow*. Alberta, Canada: University of Alberta.
- Ospina, H., Mühlbach, P. R., Prates, E. R. & Barcellos, J. O. (2000). Porque e como otimizar o consumo de alimentos da vaca em lactação. In *2º Encontro anual da UFRGS sobre nutrição de ruminantes: novos desafios para a produção leiteira do Rio Grande do Sul*. (p. 37-72). Porto Alegre, Brasil: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Peres, J.R. (2001). O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In Gonzalez, F.H.D., Dürr, J. & Fontaneli, R.S. (eds.) *Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras*. Porto Alegre, Brasil: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Whyte, D., Claycomb, R. & Meins, G. (2002). Desenvolvimento de um sensor on-line de mastite. In *2º Congresso panamericano de qualidade do leite e controle de mastite*. Riberão Preto.
- Wittwer, F., Reyes, J. M., Opitz, H., Contreras, P. & Böhmwald, D. H. (1993). Determinación de urea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. *Arch. Med. Vet.*, *25*, 165-172.

### **3. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional**

*Félix H. D. González & Jean Francisco Scheffer*

*Universidade Federal do Rio Grande do Sul*

A composição bioquímica do plasma sanguíneo reflete de modo fiel a situação metabólica dos tecidos animais, de forma a poder avaliar lesões teciduais, transtornos no funcionamento de órgãos, adaptação do animal diante de desafios nutricionais e fisiológicos e desequilíbrios metabólicos específicos ou de origem nutricional. O estudo da composição bioquímica do sangue é de longa data, principalmente vinculada à patologia clínica em casos individuais. Na década de 1970, Payne e colaboradores em Compton (Inglaterra), ampliaram a utilização deste estudo mediante o conceito de perfil metabólico, isto é, a análise de componentes sanguíneos aplicados a populações. O trabalho de Payne, aplicado inicialmente a rebanhos leiteiros, foi ampliado a outras espécies, com aplicações práticas no manejo alimentar (Payne & Payne, 1987).

A interpretação do perfil bioquímico é complexa tanto aplicada a rebanhos quanto a indivíduos, devido aos mecanismos que controlam o nível sanguíneo de vários metabólitos e devido, também, a grande variação desses níveis em função de fatores como raça, idade, stress, dieta, nível de produção leiteira, manejo, clima e estado fisiológico (lactação, gestação, estado reprodutivo). Também, para a correta interpretação dos perfis metabólicos é indispensável contar com valores de referência apropriados para a região e a população em particular. Em caso de não contar com esses dados, os valores referenciais a ser usados devem ser de zonas climáticas e grupos animais similares. O presente trabalho tem por objetivo mencionar as causas de variação de alguns dos metabólitos sanguíneos mais usados no estudo do perfil bioquímico.

#### **Albumina**

A albumina é a proteína mais abundante no plasma, perfazendo cerca de 50% do total de proteínas. Tem um peso molecular aproximado de 66 kD. É sintetizada no fígado e contribui em 80% da osmolaridade do plasma sanguíneo, constituindo também uma importante reserva proteica, bem como um transportador de ácidos graxos livres,

aminoácidos, metais, cálcio, hormônios e bilirrubina. A albumina também tem função importante na regulação do pH sanguíneo, atuando como ânion.

O nível de albumina pode ser indicador do conteúdo de proteína na dieta, muito embora as mudanças ocorram lentamente. Para a detecção de mudanças significativas na concentração de albumina sérica é necessário um período de pelo menos um mês, devido à baixa velocidade de síntese e de degradação. Níveis de albumina diminuídos, juntamente com diminuição de ureia, indicam deficiência proteica. Níveis de albumina diminuídos com níveis de ureia normais ou elevados acompanhados de níveis de enzimas altos são indicadores de falha hepática. A hipoalbuminemia pode afetar o metabolismo de outras substâncias devido ao papel da albumina como transportadora, além de causar queda da pressão osmótica do plasma e levar a ascite, geralmente quando a concentração de albumina cai para menos de 20 g/L.

<u>Albumina</u>	
<i>Aumento</i>	<i>Diminuição</i>
Desidratação	Dano hepático crônico
Perda excessiva de fluidos	Déficit alimentar de fontes proteicas
	Parasitismo gastrointestinal
	Doença renal (síndrome nefrótico, glomerulonefrite crônica, diabetes)
	Síndrome de malabsorção
	Hemorragias
	Sobreidratação (iatrogênico)

## **Bilirrubina**

A maior parte da bilirrubina no plasma deriva da degradação dos eritrócitos velhos pelo sistema retículo-endotelial (sistema mononuclear fagocitário), especialmente no baço. A bilirrubina restante provém da degradação da mioglobina, dos citocromos e de eritrócitos imaturos na medula óssea. A hemoglobina liberada dos eritrócitos se divide em porção globina e grupo heme. Após a extração da molécula de ferro, que fica armazenado ou é reutilizado, o grupo heme é convertido em bilirrubina. A bilirrubina assim formada é chamada de bilirrubina livre, que é transportada até o fígado ligada à albumina plasmática. Esta forma, também conhecida como bilirrubina indireta no laboratório clínico, não é solúvel em água. Sendo lipossolúvel, não é filtrada pelos glomérulos renais, e não é excretada pela urina.

No fígado, a bilirrubina é desligada da albumina e conjugada com o ácido glicurônico para formar bilirrubina conjugada. Esta é solúvel em água e secretada ativamente pelos canalículos biliares menores e posteriormente excretada pela bile. A bilirrubina conjugada não pode ser reabsorvida no intestino, mas as enzimas bacterianas presentes no íleo e cólon convertem a bilirrubina em urobilinogênio fecal (estercobilinogênio), que é reabsorvido em torno de 10 a 15% pela circulação portal até o fígado. A maioria deste urobilinogênio é re-excretada pela bile e uma parte pode ser excretada pela urina. O urobilinogênio não reabsorvido no intestino é oxidado a estercobilina, pigmento responsável pela cor marrom das fezes.

<u>Bilirrubina</u>	
<i>Aumento</i>	<i>Diminuição</i>
Hemólise intravascular	Anemia crônica
Hemorragia massiva	
Transfusão inadequada	
Lesão hepato-celular	
Obstrução biliar	
Cirrose	
Drogas esteroidais	

## **Cálcio**

No plasma, o cálcio (Ca) existe em duas formas, livre ionizada (cerca de 45%) ou associado a moléculas orgânicas, tais como proteínas, principalmente albumina (cerca de 45%) ou a ácidos orgânicos (cerca de 10%). O Ca total, forma como é medido no sangue, contém a forma ionizada que é biologicamente ativa, e a forma não ionizada. Estas duas formas estão em equilíbrio e sua distribuição final depende do pH, da concentração de albumina e da relação ácido-base. Quando existe acidose, há uma tendência para aumentar a forma ionizada de Ca. Uma queda no nível de albumina causa diminuição do valor de Ca sanguíneo.

O sistema endócrino envolvendo a vitamina D<sub>3</sub>, o paratormônio (PTH) e a calcitonina, responsáveis pela manutenção dos níveis sanguíneos de Ca, atua de forma bastante eficiente para ajustar-se à quantidade de Ca disponível no alimento e às perdas que acontecem, principalmente na gestação e na lactação. O firme controle endócrino do Ca, faz com que seus níveis variem muito pouco (17%) comparado com o fósforo (variação de 40%) e o magnésio (variação de 57%). Portanto, o nível sanguíneo de Ca

não é um bom indicador do estado nutricional, enquanto os níveis de fósforo e magnésio refletem diretamente o estado nutricional com relação a estes minerais.

<u>Cálcio</u>	
<i>Aumento</i>	<i>Diminuição</i>
Neoplasia	Febre do leite (vacas leiteiras)
Intoxicação com vitamina D	Deficiência de vitamina D
Hiperparatireoidismo primário	Hipoparatiroidismo
Dieta com excesso de cálcio	Hipoalbuminemia
	Doença renal crônica
	Animais velhos
	Gestação / lactação
	Doenças intestinais
	Dieta baixa em cálcio
	Dieta baixa ou com excesso de magnésio

## **Colesterol**

O colesterol nos animais pode ser tanto de origem exógena, proveniente dos alimentos, como endógena, sendo sintetizado, a partir do acetil-CoA, no fígado, nas gônadas, no intestino, na glândula adrenal e na pele. A biossíntese de colesterol no organismo é inibida com a ingestão de colesterol exógeno. O colesterol circula no plasma ligado às lipoproteínas (HDL, LDL e VLDL), sendo que cerca de 2/3 dele está esterificado com ácidos graxos. Os níveis de colesterol plasmático são indicadores adequados do total de lipídeos no plasma, pois corresponde a aproximadamente 30% do total. O colesterol é necessário como precursor dos ácidos biliares, os quais fazem parte da bile, e dos hormônios esteroides (adrenais e gonadais). Os estrógenos, sintetizados a partir de colesterol, afetam a complexa inter-relação das funções hipofisiária, tireoidiana e adrenal. Portanto, os níveis de colesterol podem dar uma indicação indireta da atividade tireoidiana.

O colesterol é excretado pela bile, na forma de ácidos biliares, ou na urina, na forma de hormônios esteroides. Em animais monogástricos é recomendável que as coletas para dosar colesterol sejam feitas após jejum de 12 horas.



<u>Colesterol</u>	
<i>Aumento</i>	<i>Diminuição</i>
Hipotireoidismo	Insuficiência hepática
Diabetes mellitus	Dieta baixa em energia
Obstrução biliar	Hipertireoidismo
Pancreatite	Pré-parto
Síndrome nefrótico	Doenças genéticas (síntese de apolipoproteína)
Hiperadrenocorticismo	
Dieta rica em gorduras	
Gestação	
Início da lactação	
Animais velhos	

### **Corpos cetônicos**

Os corpos cetônicos, produto do metabolismo dos ácidos graxos, são o  $\beta$ -hidroxibutirato, o acetoacetato e a acetona. Em situações onde há deficiência de energia, o acetoacetato, produzido normalmente no metabolismo dos ácidos graxos, não pode ser metabolizado e sofre redução a  $\beta$ -hidroxibutirato ou descarboxilação até acetona.

<u>Corpos cetônicos</u>	
<i>Aumento</i>	<i>Diminuição</i>
Diabetes mellitus	Sem significado clínico
Cetose dos ruminantes	
Jejum prolongado	
Má nutrição	
Síndrome de má absorção	
Deficiência de cobalto em ruminantes	
Balanço energético negativo	

### **Creatinina**

A creatinina plasmática é derivada, praticamente em sua totalidade, do catabolismo da creatina presente no tecido muscular. A creatina é um metabólito utilizado para armazenar energia no músculo, na forma de fosfocreatina, e sua degradação para creatinina ocorre de maneira constante, ao redor de 2% do total de creatina diariamente (Figura 1). A conversão de fosfocreatina em creatinina é uma reação não enzimática e irreversível, dependente de fatores estequiométricos. A excreção de creatinina só se realiza por via renal, uma vez que ela não é reabsorvida nem reaproveitada pelo organismo. Por isso, os níveis de creatinina plasmática refletem a taxa de filtração renal,

de forma que níveis altos de creatinina indicam uma deficiência na funcionalidade renal.

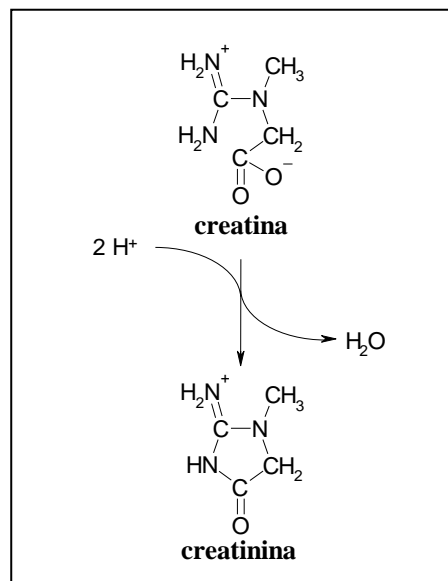


Figura 1. Formação de creatinina a partir da creatina.

<u>Creatinina</u>	
<i>Aumento</i>	<i>Diminuição</i>
Fluxo renal reduzido	Insuficiência hepática
Hipotensão	Sobrehidratação
Desidratação	Miopatia
Doenças renais	Desnutrição
Obstrução urinária	
Síndrome hepato-renal	
Dano muscular	
Exercício intenso	

## Fósforo

O fósforo (P) existe em combinações orgânicas dentro das células, mas o interesse principal no perfil metabólico reside no fósforo inorgânico presente no plasma. A manutenção do nível de P do sangue é governada pelos mesmos fatores que promovem a assimilação do Ca. Porém, na interpretação do perfil os dois minerais indicam diferentes problemas. Por outro lado, o controle da concentração de cálcio via endócrina é mais rigoroso e o nível de fósforo inorgânico no plasma sanguíneo dos bovinos geralmente oscila bem mais que o nível de cálcio. Os níveis de P são particularmente variáveis no

ruminante em função da grande quantidade que se recicla via saliva e sua absorção no rúmen e intestino. A interrupção do ciclo leva a hipofosfatemia. Normalmente a perda de P nas secreções digestivas no bovino chega a 10 g/dia. Por outro lado, o P no rúmen é necessário para a normal atividade da microflora e, portanto, para a normal digestão.

A disponibilidade de P alimentar diminui com a idade (90% em bezerros, 55% em vacas adultas). Daí que os níveis sanguíneos de P sejam menores em animais mais velhos. Deficiências no fósforo não tem efeitos imediatos, como é o caso do Ca, porém no longo prazo podem causar crescimento retardado, osteoporose progressiva, infertilidade e baixa produção. A deficiência severa de fósforo manifestada por níveis sanguíneos de < 3,0 mg/dL leva a depravação do apetite. Hipofosfatemia é observada em dietas deficientes em P, mais comumente em solos deficientes em fósforo, principalmente durante o outono/inverno e em vacas de alta produção. Geralmente, as pastagens são abundantes em Ca e deficientes em P, acontecendo uma relativa deficiência de P e um excesso de Ca. Porém, os ruminantes estão bem adaptados para compensar altas relações Ca:P (até mais de 3:1). Por outro lado, o excesso de suplementação com Ca e P podem causar diminuição da absorção intestinal de outros minerais, tais como Mg, Zn, Mn e Cu. Dietas com excesso de cereais, especialmente trigo, que contém alto teor de P, podem causar hiperfosfatemia em ovelhas e cabras, em decorrência da qual pode ocorrer urolitíase. O mesmo pode acontecer em gado sobrealimentado com concentrados e em cães e gatos com dietas únicas de carne.

<u>Fósforo</u>	
<i>Aumento</i>	<i>Diminuição</i>
Insuficiência renal	Dieta com alta relação Ca/P
Intoxicação com vitamina D	Síndrome de má absorção
Hipoparatiroidismo	Hiperparatiroidismo
Dieta com baixa relação Ca/P	Deficiência de vitamina D
Amostra hemolisada	Osteomalácia
Amostra mal conservada	
Hemólise extravascular	
Animais jovens	

### **Glicose e proteínas glicosiladas**

Entre vários metabólitos usados como combustível para a oxidação respiratória, a glicose é considerada o mais importante, sendo vital para funções tais como o

metabolismo do cérebro e na lactação. O nível de glicose sanguínea pode indicar falhas na homeostase, como ocorre em doenças tais como as cetoses.

Na digestão dos ruminantes, pouca glicose proveniente do trato alimentar entra na corrente sanguínea. O fígado é o órgão responsável pela sua síntese a partir de moléculas precursoras na via da gliconeogênese. Assim, o ácido propiônico produz 50% dos requerimentos de glicose, os aminoácidos gliconeogênicos contribuem com 25% e o ácido láctico com 15%. Outro precursor importante é o glicerol.

O teor de glicose sanguíneo tem poucas variações, em função dos mecanismos homeostáticos bastante eficientes do organismo, os quais envolvem o controle endócrino por parte da insulina e do glucagon sobre o glicogênio e dos glicocorticoides sobre a gliconeogênese. Quando o fornecimento energético é inadequado, esses hormônios estimulam a degradação de glicogênio hepático e a síntese de nova glicose no fígado e quando o balanço energético se torna negativo, estimulam a mobilização de triglicerídeos para fornecer ácidos graxos como fonte de energia na forma de acetil-CoA e glicerol como precursor de glicose hepática. A dieta tampouco tem grande efeito sobre a glicemia, em função desses mecanismos homeostáticos, exceto em animais com severa desnutrição. Porém, o fato de ser um metabólito vital para as necessidades energéticas do organismo justifica sua inclusão no perfil metabólico.

Sob condições de campo, diferentemente das condições experimentais, em ocasiões ocorre hipoglicemia, e seja qual for a causa ela indica um estado patológico com importantes implicações na saúde e na produção. Em cavalos subalimentados apresenta-se com frequência hipoglicemia e hiperlipidemia. A mobilização de lipídeos nesta espécie pode ser excessiva podendo causar dano hepático, às vezes fatal.

O nível de glicose nos ruminantes tende a ser menor no terço final da gestação do que nos períodos anteriores, isto é, os níveis tendem a diminuir à medida que a gestação avança. Sabe-se que o feto *in utero* demanda glicose como maior fonte de energia. Entretanto, no momento do parto, a glicemia tem um aumento agudo, talvez devido ao estresse. No período posterior ao parto os níveis caem de novo, especialmente na primeira semana e em vacas de alta produção.

As proteínas glicosiladas, fructosamina e hemoglobina (Hb) glicosilada, referem a proteínas do plasma e das hemácias, respectivamente, que se formam por reação não enzimática e reversível de moléculas de glicose e resíduos de lisina, formando complexos de aldimina (base de Schiff) que se convertem em um composto estável de cetoamina. A

concentração dessas proteínas dá uma ideia da glicemia durante o período correspondente à meia-vida da proteína (20 dias no caso da fructosamina, que está ligada basicamente a albumina, e em torno de 60 dias no caso da Hb glicosilada, dependendo da espécie). Estas medições se recomendam em situações de hiperglicemia crônica para discriminar de hiperglicemias temporárias (por estresse ou alimentação, por exemplo).

<u>Glicose</u>	
<i>Aumento</i>	<i>Diminuição</i>
Diabetes mellitus	Hiperinsulinismo
Hiperadrenocorticismo	Hipoadrenocorticismo
Estresse	Síndrome de má absorção
Pancreatite	Amostra mal conservada
Hipoinsulinismo	Subnutrição
Alimentação recente	Lactação
Deficiência de tiamina	Toxemia da gestação
Animais jovens	
Infusão intravenosa de glicose	

## **Lactato**

O lactato é um produto intermediário do metabolismo dos glicídeos, sendo o produto final da glicose anaeróbica. Na presença suficiente de oxigênio e uma moderada taxa de glicólise, o ácido pirúvico entra no ciclo de Krebs, gerando CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O. Em condições em que o ácido pirúvico é produzido em uma quantidade maior da que consiga utilizar, ou quando ocorre condição de anaerobiose, o ácido pirúvico é convertido em ácido láctico. Em condições normais, a maioria do lactato é produzida pelos eritrócitos, mas durante exercício ou atividade física intensa, o músculo produz grandes quantidades de lactato, devido à condição de insuficiente oxigenação do músculo nestas situações.

<u>Lactato</u>	
<i>Aumento</i>	<i>Diminuição</i>
Situações de hipoxia	Sem significado clínico
Anemia	
Insuficiência cardíaca	
Diabetes mellitus	
Acidose láctica (ruminantes)	
Deficiência de tiamina	
Toxemia da gestação	
Exercício físico intenso	
Amostra mal conservada	

## Lipídeos totais

Os lipídeos têm importantes funções no organismo, tais como fazer parte da estrutura das membranas celulares, como fonte energética, na síntese de hormônios e como protetores das vísceras. Os lipídeos encontrados no plasma são divididos em três grandes grupos: colesterol, fosfolipídeos e triglicerídeos ou gorduras neutras.

<u>Lipídeos totais</u>	
<i>Aumento</i>	<i>Diminuição</i>
Hipotireoidismo	Hipertireoidismo
Diabetes mellitus	Anemia
Hepatite aguda	Infecção aguda
Alimentação rica em gordura	Animais jovens
Cirrose biliar	
Gestação	
Ovipoção	
Nefrose	
Caquexia	

## Magnésio

Não existe um controle homeostático rigoroso do magnésio (Mg) e, portanto, sua concentração sanguínea reflete diretamente o nível da dieta. O controle renal de Mg está mais direcionado para prevenir a hipermagnesemia, mediante a excreção do excesso de Mg pela urina. Diante de uma deficiência de Mg, seus níveis na urina caem a praticamente zero. Assim, os níveis de Mg na urina são indicadores da ingestão do mineral nos alimentos.

A hipomagnesemia tem sérias consequências para os ruminantes podendo levar até a morte, enquanto a hipermagnesemia não causa maior transtorno. A hipomagnesemia ou a tetania hipomagnesêmica constitui uma doença da produção, geralmente causada pela baixa ingestão de Mg na dieta. A hipomagnesemia pode causar, além da tetania, hiperexcitabilidade, retenção de placenta, bem como anormalidade da digestão ruminal e diminuição da produção de leite. Também predispõe à apresentação de febre do leite (hipocalcemia) em vacas após o parto, devido a que níveis baixos de Mg (< 2 mg/dL) reduzem drasticamente a capacidade de mobilização das reservas de Ca dos ossos.

O Mg está mais disponível em forragens secas e em concentrados (10-40%) do que em pastos frescos (5-33%). Pastagens jovens com altos níveis de proteína e K inibem a absorção de Mg. O Mg é absorvido no intestino mediante um sistema de transporte ativo

que pode ser interferido pela relação Na:K e ainda pela quantidade de energia, de Ca e de P presentes no alimento. A hipomagnesemia também pode ser consequência de uma excessiva lipólise em decorrência de uma deficiência de energia.

O Mg é um mineral não essencial para o crescimento das pastagens. O K, que é essencial, muitas vezes fica em excesso especialmente por causa dos fertilizantes. Esse K em excesso inibe a absorção intestinal de Mg e, associado à deficiência de Mg, pode levar facilmente à hipomagnesemia. O nível de Mg no perfil metabólico (valor de referência: 2,0-3,0 mg/dL), pode indicar estados subclínicos antes de surgir o problema sendo especialmente útil antes do parto para evitar problemas de tetania no pós-parto, geralmente complicados com febre de leite. Configura-se hipomagnesemia em ruminantes com níveis de Mg abaixo de 1,75 mg/dL, aparecendo sinais clínicos com concentrações abaixo de 1,0 mg/dL. Os níveis de Mg na urina podem ser indicativos de deficiência quando estão abaixo de 0,5 mg/dL (valor de referência na urina: 10-15 mg/dL). É aconselhável fazer monitoramento dos níveis de Mg no sangue ou na urina ao longo do ano para prevenir hipomagnesemia. O leite é relativamente deficiente em Mg, pelo qual recomenda-se suplementar aos animais lactentes.

<u>Magnésio</u>	
<i>Aumento</i>	<i>Diminuição</i>
Hipocalcemia	Tetania das pastagens
Falha renal	Síndrome de má absorção
Amostra hemolisada	Desnutrição
Amostra mal conservada	Hipoparatiroidismo
Desidratação	Glomerulonefrite crônica
	Hiperaldosteronismo
	Convulsões

### **Proteínas totais**

As principais proteínas plasmáticas são a albumina, as globulinas e o fibrinogênio. Elas estão envolvidas em múltiplas funções, tais como a manutenção da pressão osmótica e da viscosidade do sangue, o transporte de nutrientes, metabólitos, hormônios e produtos de excreção, a regulação do pH sanguíneo e a participação na coagulação sanguínea. As proteínas sanguíneas são sintetizadas principalmente pelo fígado, sendo que a taxa de síntese está diretamente relacionada com o estado nutricional do animal, especialmente com os níveis de proteína e de vitamina A, e com a funcionalidade hepática.

<u>Proteínas totais</u>	
<i>Aumento</i>	<i>Diminuição</i>
Desidratação	Síndrome de má absorção
Perda de fluidos	Subnutrição
Infecções	Cirrose hepática
Tumores	Síndrome nefrótico
Choque	Sobrehidratação
Animais velhos	Enteropatia
Amostra hemolisada	Queimaduras
	Animais jovens
	Hemorragia

## **Ureia**

A ureia é sintetizada no fígado a partir da amônia proveniente do catabolismo dos aminoácidos e da reciclagem de amônia do rúmen. Os níveis de ureia são analisados em relação ao nível de proteína na dieta e ao funcionamento renal. A ureia é excretada principalmente pela urina e, em menor grau, pelo intestino e o leite. Na maioria dos animais (exceto em aves, que secretam ácido úrico), o nível de ureia é indicador de funcionamento renal. O aumento plasmático da ureia pode ser por causas pré-renais, que diminuem o fluxo sanguíneo no rim, causas renais, por deficiência de filtração ou por causas pós-renais, como na obstrução urinária. Os níveis de ureia sanguínea também estão afetados pelo nível nutricional, particularmente em ruminantes. De modo geral, a ureia é um indicador sensível e imediato da ingestão de proteína, enquanto a albumina é indicador a longo prazo do estado proteico. Por outra parte, uma dieta baixa em proteínas afeta pouco a concentração de globulinas.

<u>Ureia</u>	
<i>Aumento</i>	<i>Diminuição</i>
Falha cardíaca	Insuficiência hepática
Choque hipovolêmico	Síndrome de má absorção
Hipotensão	Sobrehidratação
Desidratação	Dieta baixa em proteína
Doença renal	
Obstrução do trato urinário	
Dieta alta em proteína	
Diabetes mellitus	
Dieta baixa em energia	



## Perfil enzimático

A enzimologia clínica é de grande ajuda diagnóstica, principalmente em relação às enzimas presentes na corrente sanguínea, várias das quais são incluídas no estudo do perfil metabólito sanguíneo (Tabela 1).

Tabela 1. Principais enzimas usadas na clínica veterinária

<b>Enzima</b>	<b>Órgão</b>	<b>Interpretação do aumento</b>
Acetilcolinesterase	Junção mioneural, cérebro	Lesão no SNC, hiperlipoproteinemia
Alanina aminotransferase	Fígado e músculo	Lesão hepática (hepatite, trauma, neoplasia, amiloidose, esteatose), indução por drogas (anticonvulsivantes, glicocorticoides, mebendazol, paracetamol), miocardite, regeneração hepatocelular
Aldolase	Fígado e músculo	Lesão hepática (carcinoma, hepatite), leucemia granulocítica, anemia megaloblástica, lesão muscular, indução por corticosteroides
Amilase	Pâncreas, intestino, glândula salivar	Pancreatite aguda, lesões intestinais (obstrução, úlceras, torção, traumas), obstrução urinária, hiperadrenocorticismo, obstrução da glândula salivar, insuficiência renal
Aspartato aminotransferase	Fígado, músculo esquelético e cardíaco, eritrócitos, rins	Cardiomiopatias (isquemia cardíaca, necrose, neoplasia), lesão muscular (deficiência de vitamina E e selênio, injeção intramuscular, exercício excessivo), lesão hepatocelular (hepatite, cirrose, obstrução do ducto biliar, esteatose, icterícia)
Creatina quinase	Músculo, SNC, rins, tireoide, útero	Lesão muscular (rabdomiólise, cirurgia, injeção intramuscular, necrose, toxoplasmose, deficiência de vitamina E e selênio, hipertermia maligna, decúbito), miocardiopatias, encefalomalácia
Fosfatase alcalina	Ossos, fígado, intestino, placenta, rins	Dano hepatocelular, indução por drogas (barbitúricos e anticonvulsivantes) ou esteroides, animais em crescimento, doenças ósseas (tumores, osteomalácia, consolidação de fraturas), deficiência de vitamina D, caquexia, septicemia, endotoxemia, pancreatite, hiperparatireoidismo, hiperadrenocorticismo
Gamaglutamil transferase	Fígado, pâncreas, rins, intestino	Dano hepático (metástase, hepatite, obstrução biliar, aflatoxicose), indução por glicocorticoides
Glutamato desidrogenase	Fígado	Doenças hepáticas (necrose, obstrução biliar)
Lactato desidrogenase	Fígado e músculo	Transtornos dos músculos esqueléticos (rabdomiólise, miodegeneração nutricional) e cardíaco (isquemia devido à endocardite, dirofilariose, trombose aórtica, infarto, trauma, necrose, neoplasia), moléstias renais e hepáticas (necrose, lesão)
Lipase	Pâncreas, fígado	Pancreatite aguda, falha renal, doenças hepáticas, indução por glicocorticoides e opioides, obstrução intestinal, insuficiência renal.
Tripsina	Pâncreas	Pancreatite aguda

A medição da atividade enzimática no plasma como ajuda diagnóstica está fundamentada nos seguintes conceitos: (a) No plasma sanguíneo podem ser encontradas enzimas cuja síntese e função são exercidas em nível intracelular, mas que podem sair para a corrente circulatória, após a morte celular. Sob condições normais, estas enzimas têm baixa atividade no plasma. Outras enzimas, que também são produzidas no espaço intracelular podem ser secretadas para atuar fora das células, como é o caso das enzimas da coagulação sanguínea (trombina). (b) Como a concentração intracelular das enzimas é bem maior que no plasma, danos celulares relativamente pequenos podem levar a aumentos significativos da atividade das enzimas no plasma. (c) Aumentos da atividade enzimática no plasma permite fazer inferência sobre o lugar e o grau do dano celular, uma vez que muitas enzimas são específicas de órgãos. O grau de alteração pode ser determinado pela atividade de enzimas associadas a diferentes compartimentos celulares. Assim, em danos tissulares severos, aparece maior atividade de enzimas mitocondriais (e.g. GLDH) e em danos menores aparece atividade de enzimas citoplasmáticas (e.g. ALT) ou de membrana (e.g. FA). (d) Os níveis enzimáticos no plasma estão influenciados pela velocidade com que entram na corrente circulatória, o que por sua vez depende do dano celular e pela taxa de inativação enzimática (meia-vida da enzima). (e) O evento que interessa na determinação enzimática é o aumento da atividade, não tendo geralmente importância a sua diminuição.

O sistema de medida da atividade enzimática mais usado é o de Unidades Internacionais (U), equivalente à quantidade de enzima que catalisa a conversão de 1  $\mu\text{mol}$  de substrato por minuto. Devem ser expressadas as condições de pH, temperatura e concentração de substrato usadas na determinação. A União Internacional de Bioquímica (IUB) recomenda, para expressar a atividade enzimática, o uso do katal (1 kat = 1 mol/s) unidade que tem equivalência no sistema internacional (1 U/L = 16,67 nkat/L).

A amostra utilizada para a análise de enzimas deve ser preferivelmente soro e, se usar plasma, deve evitar-se o uso de anticoagulantes com agentes quelantes de metais, tais como EDTA, citrato ou oxalato, para evitar a inativação das metaloenzimas. A heparina é uma boa alternativa. A estabilidade das enzimas é diferente para cada uma sendo conveniente separar o soro ou o plasma o mais rapidamente possível.

## Referências

- Adams, R. S., Stout, W. L., Kradel, D. C., Guss Jr., S. B., Moser, B. L. & Jung, G. A. (1978). Use and limitations of profiles in assessing health or nutritional status of dairy herds. *J. Dairy Sci.*, *61*, 1671-1679.
- Bouchat, J. C., Doize, F. & Paquay, R. (1980). Effect of fasting on blood composition and nitrogen losses in the adult sheep depending on previous diet and body weight. *Reprod. Nutr. Dev.*, *20*, 77-92.
- Bush, B. M. (1991). *Interpretation of laboratory results for small animal clinicians*. Oxford, England: Blackwell Scientific Publications.
- Collins, J. D. (1979). Metabolic profiles tests for dairy cattle. *Irish Vet. J.*, *79*, 26-31.
- Contreras, P. A. (1998). Enfermedades metabólicas en vacas de alta producción. *Therios Suplemento especial, octubre*.
- Contreras, P. A., Valenzuela, L., Wittwer, F. & Böhmwald, H. (1996). Desbalances metabólicos más frecuentes en rebaños de pequeños productores de leche, Valdivia-Chile. *Arch. Med. Vet.*, *28*, 39-50.
- Cote, J. F. & Hoff, B. (1991). Interpretation of blood profiles in problem dairy herds. *The Bovine Practitioner*, *26*, 7-11.
- Fajardo, H. & Viamonte, M. I. (1992). Algunas alteraciones metabólicas asociadas a la infertilidad de los rumiantes. *Rev. Cub. Cienc. Vet.*, *23*, 33-44.
- Galimberti, A., Bertoni, G. & Cappa, V. (1977). La determinazione del profilo metabolico quale mezzo per evidenziare le cause alimentari di ipofertilità bovina. *Zoot. Nutriz. Anim.*, *3*, 237-245.
- González, F. H. D. (2001). Perfil metabólico en bovinos: alcance y utilidad. *Revista M. V. Z.*, *3*, 45-52.
- Gonzalez, F. H. D., Haida, K., Zanella, R. & Figur, K. (1996). Influência da época do ano no perfil metabólico em gado leiteiro no sul do Brasil. *Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS*, *24*, 11-24.
- Gonzalez, F.H.D., Carvalho, V., Möller, V., Duarte, F. (2001). Perfil bioquímico sanguíneo de cães e gatos na cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. *Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS*, *29*, 1-6.
- Gonzalez, F. H. D., Conceição, T. R., Soqueira, A.J. & LaRosa, V. L. (2000). Variações sanguíneas de uréia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no Rio Grande do Sul. *A Hora Veterinária*, *20*, 59-62.
- Gonzalez, F. H. D., Möller, V. M. & Carvalho, V. (1999). Plasma biochemical profile in dogs with gastrointestinal disorders. *Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS*, *27*, 80-86.
- Gonzalez, F. H. D., Rocha, J. A. (1998). Metabolic profile variations and reproduction performance in Holstein cows of different milk yields in southern Brazil. *Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS*, *26*, 52-64.
- Gonzalez, F. H. D., Barcellos, J. O., Ospina, H. & Ribeiro, L. A. (Eds.) (2000). *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Porto Alegre, Brasil: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

- Gonzalez, F. H. D., Borges, J. B. & Cecim, M. (Eds.) (2000). *Uso de provas de campo e laboratório clínico em doenças metabólicas e ruminais dos bovinos*. Porto Alegre, Brasil: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- González-Montaña, J. R. & Rejas-López, J. (1995). Toxemia de la gestación. *Med. Vet.*, *12*, 513-522.
- Ingraham, R. H. & Kappel, L. C. (1988). Metabolic profile testing. *Vet. Clin. N. Amer. Food Anim. Pract.*, *4*, 391-411.
- Kaneko, J. J., Harvey, J. W. & Bruss, M. L. (Eds.) (1997). *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5<sup>th</sup> ed., New York, USA: Academic Press.
- Kerr, M. G. (1991). *Veterinary laboratory medicine: clinical biochemistry and haematology*. Oxford, England: Blackwell Scientific Publications.
- Kolver, E. S. & McMillan, K. L. (1994). Variation in selected plasma constituents during the post-partum and breeding periods in dairy cows. *N.Z. Vet. J.*, *42*, 161-166.
- McDowell, L. R. (1999). *Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais enfatizando o Brasil*. Gainesville, USA: University of Florida.
- Payne, J. M. & Payne, S. (1987). *The metabolic profile test*. Oxford, England: Oxford University Press.
- Pelletier, G., Tremblay, A. V. & Helie, P. (1985). Facteurs influençant le profil métabolique des vaches laitières. *Can Vet. J.*, *26*, 306-311.
- Smythe, P. J. (1976). Metabolic profile tests, their uses and limitations. *J. Dept. Agric. Fish-Ireland*, *73*, 60-68.
- Sommer, H. (1975). Preventive medicine in dairy cows. *Vet. Med. Rev.*, *1*, 42-63.
- Rossato, W., Gonzalez, F. H. D., Dias, M. M. et al. (2001). Number of lactations affects metabolic profile of dairy cows. *Archives of Veterinary Science*, *6*, 83-88.
- Rossato, W., Gonzalez, F. H. D., Dias, M. M., Faria, S. V. & Riccó, D. (1999). Condição metabólica e desempenho reprodutivo no pós-parto em vacas leiteiras do sul do Brasil. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, *23*, 155-156.
- Rowlands, G. J. & Manston, R. (1983). Decline of serum albumin concentration at calving in dairy cows: its relationships with age and association with subsequent fertility. *Res. Vet. Sci.*, *4*, 90-96.
- Wittwer, F., Heuer, G., Contreras, P. A. & Böhmwald, H. (1993). Valores bioquímicos clínicos sanguíneos de vacas cursando con decúbito en el sur de Chile. *Arch. Med. Vet.*, *15*, 83-88.
- Wittwer, F., Böhmwald, H., Contreras, P. A., Filoza, J. (1987). Análisis de los resultados de perfiles metabólicos en rebaños lecheros en Chile. *Arch. Med. Vet.*, *19*, 35-45.
- Wittwer, F., Reyes, J. M., Opitz, H. et al. (1993). Determinación de urea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. *Arch. Med. Vet.*, *25*, 165-172.

## **4. Diagnóstico de doenças nutricionais e metabólicas por meio de exame de urina em ruminantes**

*Enrico Lippi Ortolani*  
*Universidade de São Paulo*

A urina é um dos principais fluidos de excreção de substâncias nocivas ao organismo. Ela é produto de seletiva e específica filtração do sangue pelos rins, acrescida de células e porventura bactérias presentes nos ureteres, bexiga, uretra e da genitália, resultando normalmente num fluido de coloração amarelada, variando seu tom de acordo com a concentração da urina. A maior ou menor taxa de filtração, reabsorção e excreção de alguns nutrientes e catabólitos pelos rins permite com que a urina seja utilizada no diagnóstico de algumas enfermidades metabólicas.

### **Coleta e conservação de amostras de urina**

Uma das grandes vantagens da urina é a sua fácil coleta, sem provocar grande agitação ou estresse nos animais. A urina pode ser prontamente coletada tanto em machos como em fêmeas, desde que os animais não se encontrem em estados de oligúria, anúria ou logo em seguida à micção, quando a vesícula urinária se encontra vazia. Em machos, a massagem prepucial e o ruído de marulhar de agitação de água num balde estimulam fortemente a micção. Nas fêmeas, este fenômeno ocorre com a massagem suave na região perineal e vulvar. Nos pequenos ruminantes, a micção se torna presente, quase invariavelmente, após um breve período de sufocamento, por oclusão das narinas e da boca, quando o animal volta a respirar. A cateterização uretral pode ser feita em vacas de grande porte com auxílio de um cateter rígido metálico. Caso o animal tenha dificuldade de urinar pode ser empregado o uso de diuréticos, tal como a furosemida (0,8 a 1,5 mg/kg PV via IV). A primeira micção geralmente ocorre, em média, 17 minutos após o tratamento com furosemida. Contudo, a urina obtida com o uso de furosemida, já na 1ª coleta, é significativamente mais ácida e com menor osmolaridade que a obtida por meio de estimulação manual. A acidez é mais pronunciada devida a maior excreção de amônio ( $\text{NH}_4^+$ ), já que a furosemida diminui a reabsorção desta substância na alça de Henle, fazendo com que seja eliminada na urina.

O ideal é que a urina coletada seja analisada o mais rápido possível, em especial quando se quer determinar substâncias voláteis como a acetona ou de certa instabilidade química como o acetoacetato, ambos corpos cetônicos. Análise destas substâncias, cerca de 30 min após a coleta da urina, pode diminuir suas concentrações em até 40%. O pH urinário também pode se alterar em relação ao tempo de coleta. Bactérias contaminantes da urina, presentes no trato urinário, podem degradar a ureia urinária em amônio, principalmente se o pH original da urina for maior que 7,3, acidificando sensivelmente o pH urinário. Caso as amostras de urina não possam ser analisadas imediatamente, recomenda-se que sejam refrigeradas a 4° C, por até 12 h, para serem analisadas. Caso se queira analisar os teores de ureia, amônia, ácido úrico e demais compostos nitrogenados na urina, recomenda-se seja adicionada na amostra algumas gotas de solução de ácido forte (sulfúrico ou clorídrico) para acidificar a amostra e bloquear a ação da urease, que transforma a ureia em amônio e amônia.

### **Volume urinário**

Muitos fatores interferem no volume urinário. Sem dúvida, estados deficitários de água diminuirão a produção de urina, por menor irrigação sanguínea nos rins e maior reabsorção de água nos túbulos renais. Contudo, a restrição de água na dieta só afetará o volume urinário após o 2º dia de jejum hídrico, sendo compensado até este momento pela absorção de água presente no rúmen. Quanto maior for a ingestão de alimento, de proteína ou de nitrogênio não-proteico dietético, maior será a produção urinária, causada por uma maior ingestão de água. Por outro lado, quanto maior for a concentração de lactato plasmático, verificado em estados de acidose láctica ruminal e de glicólise anaeróbica, menor será o volume urinário (Osbaldiston & Moore, 1971).

### **pH urinário**

O pH urinário é determinado pelo balanço de íons H<sup>+</sup> e de bicarbonato na urina. Quanto maior a presença do primeiro, menor o pH e vice-versa. Em muitos casos o pH urinário reflete o estado de acidose ou alcalose do organismo como um todo, porém em outras situações esta variável não espelha o que acontece no sangue devido a mecanismos compensatórios de eliminação do íon oposto. A excreção de íons H<sup>+</sup> está atrelada principalmente à eliminação de amônia pelos rins. Uma molécula de amônia excretada

no túbulo contorcido proximal se associará a um íon  $H^+$ , dentro da luz deste segmento. Parte dos íons  $H^+$  excretados na urina podem também estar associados à eliminação de moléculas de fosfato e de lactato. O bicarbonato é proveniente, na sua maioria, da própria passagem do bicarbonato sanguíneo pelo glomérulo renal. Quanto maior a concentração sanguínea de bicarbonato, maior a filtração desta molécula pelo glomérulo (Malnik & Marcondes, 1986). Grande parte do bicarbonato é reabsorvida quando de sua passagem pelo néfrons, mas este processo é inibido em casos de acidose respiratória quando a  $pCO_2$  sanguínea está mais elevada, e em casos de hipercalemia e na hipercloremia.

O valor de referência do pH urinário dos ruminantes geralmente varia de 5,5 a 8,0. Os valores de pH urinário variam no decorrer do dia, sendo mais ácidos logo em seguida à alimentação devido a menor filtração glomerular, e logicamente menor filtração de bicarbonato e a maior excreção de íons  $H^+$  no período (Osbaldiston & Moore, 1971). Assim recomenda-se que a avaliação do pH urinário seja feita cerca de 6 horas após a alimentação. Quanto maior a quantidade de cátions ( $Na^+$  e  $K^+$ ) em relação aos ânions ( $Cl^-$  e  $SO_4^{2-}$ ) presentes numa dieta, mais alcalino será o pH urinário e vice-versa (Herdt, 2000). Normalmente, os bovinos criados extensivamente têm um pH urinário bastante alcalino, já que os capins contêm mais cátions do que ânions, enquanto que animais recebendo dietas ricas em carboidratos solúveis apresentarão um pH urinário mais ácido, principalmente pela maior formação ruminal de ácidos graxos voláteis. Bovinos alimentados com capins têm um pH urinário em torno de 7,5 a 8,0, enquanto que os alimentados com dietas ricas em concentrados apresentam um pH entre 5,5 a 7,0.

O jejum pode provocar alteração no pH urinário fazendo com que se alcalinize ligeiramente no decorrer do tempo em que o animal permanece sem ingerir alimentos. A realimentação faz com que haja um retorno a um pH mais ácido. Quadros de acidose metabólica ou respiratória podem provocar acidificação no pH urinário, chegando, em casos extremos, ao pH 4,4. Ortolani et al. (1997) induziram um quadro de acidose láctica ruminal em bovinos e acompanharam o pH urinário e sanguíneo no decorrer do processo. Quanto mais baixo foi o pH sanguíneo, mais baixo foi o pH urinário ( $r = 0,8$ ). Verificaram ainda que existia também uma relação linear significativa entre o pH urinário e a concentração de excesso de base (EB) do sangue ( $r = 0,78$ ). Este achado é grande importância prática, pois no tratamento da acidose metabólica, com tampões, é necessária a estimativa do déficit de bicarbonato sanguíneo, a fim de corrigir o pH do sangue. Para

o cálculo do déficit de bicarbonato é necessário se conhecer o peso vivo do animal e o seu atual EB, conforme a seguinte equação:

$$\text{Déficit bicarbonato (mM)} = \text{peso vivo (kg)} \times 0,3 \times \text{EB (mM)}$$

O cálculo do EB é realizado com precisão por meio de exame hemogasométrico, de pouca disponibilidade, principalmente em condições de campo. Desde que se conheça o pH urinário, passível de ser mensurado em condições rotineiras, é possível se estimar a concentração de EB, pela seguinte fórmula (Ortolani et al., 1997):

$$\text{EAB (mM)} = -47,4 + 7,42 \text{ pH urinário}$$

#### *Exemplo prático*

Uma vaca com 400 kg PV e um pH urinário 5,0 terá o seguinte excesso de base:  $\text{EB} = -47,4 + 7,42 \times 5 = -10,3 \text{ mM}$ . O sinal negativo deve então ser desconsiderado. O déficit de bicarbonato (DB) estimado é o seguinte:  $\text{DB} = 400 \times 0,3 \times 10,3 = 1.236 \text{ mM}$ . Num litro de solução de bicarbonato de sódio isotônica (1,3%) existe em torno de 155 mmol de bicarbonato. Para saber quantos litros de solução isotônica são necessários para o tratamento, divide-se 1.236 por 155, obtendo o resultado de 7,97 L.

Um outro estudo correlacionou o pH urinário e o EB em bezerros recém-nascidos com diarreia, com diferentes graus de severidade, encontrando também uma relação semelhante ao trabalho descrito acima, servindo como base para a correção da acidose metabólica destes animais (Lubestskaya & Melnichuk, 1999).

Estados de alcalose metabólica, provocados por ingestão de dietas com alto teor de potássio, também alteram o pH urinário, assim como uma condição iatrogênica pela infusão intravenosa de altas doses de bicarbonato, tornam o pH urinário mais alcalino, principalmente por maior eliminação de bicarbonato urinário (Goff & Horst, 1997; Leal et al., 2000). Embora ocorra uma resposta compensatória dos rins para equilibrar estados de alcalose, estes órgãos estão mais adaptados a terem uma correção mais efetiva frente aos quadros de acidose metabólica. Em alguns casos de alcalose sistêmica, como o apresentado na dilatação do abomaso, pode ocorrer a chamada acidúria paradoxal compensatória, se apresentando alterada até quatro dias após o tratamento cirúrgico da afecção (Buscher & Klee, 1993).



O pH urinário tem sido utilizado rotineiramente para avaliar a eficiência da administração de sais aniônicos, para prevenir hipocalcemia da parturiente em vacas secas no final da gestação. Estes sais contêm geralmente cloreto de amônio e sulfato de cálcio (gesso agrícola), fontes de íons aniônicos, os quais diminuem levemente o pH sanguíneo, acidificando também o pH urinário. O grande problema desta suplementação resume-se no fato de que estes sais, em especial o cloreto de amônio, são pouco palatáveis e se utilizados em grande quantidade na dieta podem diminuir a tal ponto a ingestão de alimentos que podem aumentar o risco de surgimento de fígado gorduroso e cetose em seguida ao parto. Por outro lado, se forem oferecidos em pequena quantidade não exercerão o seu papel de prevenir a hipocalcemia. Geralmente, são utilizados para que a dieta, normalmente catiônica, se torne ligeiramente aniônica (ao redor de  $-50$  mEq/kg MS). Vacas que estão recebendo quantidades adequadas de sais aniônicos devem apresentar, cerca de 6 h após a alimentação, pH urinário entre 6,0 a 7,0 e vacas Jersey mais predispostas à hipocalcemia, devem apresentar um pH de 5,5 a 6,0 (Herdt, 2000).

### **Corpos cetônicos**

Os corpos cetônicos (CC) são compostos primários formados do metabolismo das gorduras e do butirato representados pelo  $\beta$ -hidroxibutirato, o acetoacetato e a acetona. Este último composto é bastante volátil, enquanto que os dois primeiros não o são. O acetoacetato é quimicamente instável e pode ser transformado em acetona e dióxido de carbono. Tanto o acetoacetato como o  $\beta$ -hidroxibutirato são compostos ácidos, com pKs baixos (3,58 e 4,41, respectivamente), ou seja, quando no sangue cerca de 99% estarão na forma ionizada, e se estiverem em grande quantidade poderão provocar acidose metabólica (Kaneko et al., 1997). Normalmente, os CC são formados em pequena quantidade no organismo, não se acumulando. Em casos de grande mobilização de gorduras, como ocorre na cetose bovina e na toxemia da prenhez dos pequenos ruminantes, eles se acumulam no organismo causando graves transtornos como acidose metabólica e distúrbios cerebrais.

Parte dos CC podem ser utilizados como energia por vários tecidos inclusive o renal e uma menor quantidade deles (10%) são excretados pela urina, o leite e o ar exalado (Herdt, 1988). Pequenas quantidades de CC no sangue não chegam a alcançar a urina, pois embora sejam filtrados pelos glomérulos são em seguida reabsorvidos pelos túbulos renais e metabolizados por suas células. Porém, altas concentrações sanguíneas de CC

ultrapassam o limiar renal, principalmente a acetona e o acetoacetato, sendo excretados abundantemente. Nestes casos, para cada 4 moles de CC na urina se encontrará um no sangue e cerca de 0,5 no leite. Assim numa suspeita de hiperacetonemia, a urina deve ser utilizada inicialmente, como uma prova de triagem, pois caso não se detecte CC nela, outros fluidos não devem ser pesquisados (Herdt, 1988). A detecção de acetona e de acetoacetato na urina é feita por meio da prova de Rothera, que utiliza o nitroprussiato de sódio como reativo. Esta prova é rápida com resposta dentro de 1 min, e pode ser realizada com uso de fitas ou tabletes comerciais. Sua sensibilidade mínima é de 0,5 mM, e a prova é considerada semi-quantitativa sendo classificada em cruces de zero a 4 (Kaneko et al., 1997). Principalmente na toxemia da prenhez, a eliminação de CC na urina é extremamente alta podendo atingir até 12 mM, enquanto que na cetose bovina a produção de CC não é tão alta, raramente ultrapassando 8 mM na urina. Foi sugerido que a detecção de teores de CC na urina superiores a 1 mM (8 mg/dL) no decorrer da prenhez já seriam indicativos de risco de toxemia da prenhez em ovelhas gestando dois fetos (Ruiz-Moreno et al., 1997).

O jejum, ou estado de anorexia de no mínimo 24 h, pode fazer com que, principalmente vacas leiteiras em lactação e ovelhas e cabras prenhes com boa condição corporal, eliminem CC na urina na quantidade detectada em até 2+, o que não deve ser considerado como estado de cetose, firmando este diagnóstico apenas em valores acima deste. Bovinos de corte mantidos até dois dias em jejum não eliminam nem mesmo traços de CC na urina. Um novo teste eletrônico para se detectar  $\beta$ -hidroxibutirato na urina, no sangue e no leite já foi desenvolvido.

### **Ácido metilmalônico**

A carência de cobalto em ruminantes ocorre em várias regiões brasileiras, devido ao baixo teor deste microelemento em capins, principalmente de solos fracos. A sua carência implica na queda dos teores de cianocobalamina (vitamina B<sub>12</sub>) no organismo. Esta vitamina é cofator de uma reação ligada ao metabolismo do propionato, importante para a geração de energia, convertendo a metilmalonil-CoA em succinil-CoA, substrato para o ciclo de Krebs nos ruminantes. A carência de vitamina B<sub>12</sub> não é de fácil diagnóstico, pois a sua detecção no sangue é complexa e de difícil interpretação nos ruminantes, devido à presença de análogos desta vitamina. O diagnóstico é realizado por detecção dos teores de cobalto no fígado, já que existe um íntima relação entre os estes

teores e os de vitamina B<sub>12</sub> naquele órgão (Underwood & Suttle, 1999). Uma alternativa para o diagnóstico de deficiência de vitamina B<sub>12</sub> é a detecção de ácido metilmalônico na urina já que por falta de vitamina B<sub>12</sub> ocorrerá um acúmulo desta substância no sangue, fazendo com que seja excretada na urina. Experimentos com ovelhas e bovinos detectaram este catabólito na urina na carência da vitamina B<sub>12</sub> algumas semanas após o oferecimento de dietas carentes em cobalto. A detecção da vitamina é por meio de HPLC, o que torna mais difícil o seu uso rotineiro.

### **Amônia**

A amônia (NH<sub>3</sub>) é excretada geralmente em pequenas quantidades na urina, na forma de amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). A amônia é secretada, na sua grande maioria, no túbulo contornado proximal e parcialmente reabsorvida na alça de Henle. Quanto mais ácido e quanto maior o fluxo urinário maior é a quantidade de amônia na urina (Ortolani et al., 2002). Valores normais de amônio urinário obtidos de bovinos hígidos, criados em nosso meio, variam de 50 a 800 µM (Brito, 1998).

Na intoxicação por amônia, proveniente da alta ingestão de ureia dietética, descobriu-se que quando um bovino urina com mais frequência, mais resistente ele é a esta intoxicação, pois mais íons amônio são eliminados neste fluido (Ortolani et al., 2002). Neste experimento detectou-se, em bovinos intoxicados, quando do surgimento de episódio convulsivo, uma grande elevação nos teores urinários de amônio variando de 3.000 até 25.000 µM. Como a amônia pode se volatilizar na amostra e a ureia presente nesta pode-se converter em amônia, recomenda-se que a urina seja congelada ou que sejam adicionadas algumas gotas de ácido forte (ácido clorídrico ou sulfúrico) na amostra até a determinação laboratorial dessa substância. O amônio pode ser determinado na urina por meio de kit diagnóstico ou por eletrodo íon específico.

### **Flúor**

A intoxicação por flúor em ruminantes é citada esporadicamente em nosso país. Contudo, após a liberação do uso de certas fontes de fosfato de rocha no sal mineral, é provável que num futuro próximo ocorram surtos de intoxicação por flúor, principalmente em bovinos (em especial em vacas de corte) que tenham recebido altos teores de flúor

dietético, por longos períodos. O flúor se acumula nos ossos e dentes e uma das principais vias de excreção é a urina.

Em relação aos valores de referência, enquanto que em animais sadios os teores de flúor sanguíneo se elevam cerca de 1,5 vezes, em animais intoxicados este incremento na urina é da ordem de seis a 10 vezes (Shupe, 1980). Recomenda-se que as coletas de urina sejam feitas pela manhã ou que os resultados sejam corrigidos pela gravidade específica ou, em especial, pelo teor de creatinina urinário (Shupe, 1980). O método mais prático e sensível de determinação de flúor é por meio de eletrodo íon-específico.

### **Taxa de excreção urinária**

A taxa de excreção urinária pode ser definida como a quantidade de uma substância que é eliminada na urina por dia, por peso, ou por diluição da urina. Como a coleta completa de urina no decorrer de um dia é laboriosa e de difícil aplicação prática, tem-se simplificado esta prova, com a coleta de uma única amostra de urina coletada em qualquer momento do dia. Para diminuir a enorme influência da diluição da urina é analisada, conjuntamente com a substância que se quer mensurar, a concentração de creatinina. Esta substância é um catabólito da creatina, presente na musculatura, e é filtrada livremente pelo glomérulo, encontrando-se no filtrado glomerular na mesma concentração que no sangue. Uma outra vantagem da creatinina é que ela não é absorvida e muito pouco secretada nos túbulos renais, sendo assim indicadora de taxa de reabsorção tubular. Num animal desidratado haverá uma intensa reabsorção de água nos túbulos renais o que fará que haja também uma intensa concentração da creatinina urinária, enquanto que num caso de diurese ocorrerá o fato inverso. Assim, ao se dividir a quantidade da substância excretada na urina pela concentração de creatinina urinária diminuirá sensivelmente o fator diluição da urina. Como a quantidade total de creatinina formada no corpo e excretada na urinária depende do peso vivo e da quantidade de massa muscular, tem sido recomendado que, para corrigir discrepâncias de peso entre animais, a taxa de excreção urinária (TEU) seja corrigida pelo peso metabólico (Chen et al., 1992). Ou seja:

$$\text{TEU} = \text{concentração da substância na urina} / \text{concentração de creatinina urinária} \times \text{PV}^{0,75}$$

A taxa de excreção urinária tem um menor significado biológico em animais com grave insuficiência renal, em que a filtração glomerular fica comprometida, diminuindo a passagem para os néfrons de todas as substâncias, inclusive a creatinina.

## **Taxa de excreção urinária de ureia**

A ureia é originária do catabolismo de aminoácidos, ácidos nucléicos e de amônia endógena ou exógena, proveniente da dieta. Quanto mais rica for a dieta em proteína bruta, em especial naquela que é digerida no rúmen, maior será o teor de ureia plasmática. Por outro lado, nos casos de carência de proteína o organismo reagirá reduzindo as perdas orgânicas de nitrogênio. A principal via de excreção de nitrogênio é pela urina, por meio de eliminação de ureia. Os ruminantes além da excreção urinária, reciclam o nitrogênio (ureia) por meio da saliva para suplementar os micro-organismos ruminais.

Os rins têm grande capacidade de excretar a ureia. Esta substância é filtrada do sangue pelo glomérulo renal, reabsorvida e excretada nos vários segmentos dos túbulos renais, que resulta finalmente numa grande concentração de ureia por volume de urina em relação ao seu teor no sangue. Em algumas situações os teores de ureia na urina podem ser centenas de vezes superiores à ureia plasmática (Brenner, 1996). Apesar da elevada concentração de ureia urinária, esta reflete fielmente a quantidade de ureia presente no soro (Brito, 1998).

Os ruminantes criados extensivamente no decorrer da evolução, se alimentaram com uma dieta relativamente pobre em proteína, comparado com os monogástricos. Isto fez com que evolutivamente os ruminantes desenvolvessem mecanismos compensatórios de economizar o nitrogênio eliminado na urina, por meio de intensa reabsorção de ureia nos dutos coletores (Brenner, 1996). Isto faz com que a taxa de excreção urinária de ureia seja muito baixa em ruminantes recebendo dietas com baixos teores de proteína. Num experimento com bovinos recebendo uma dieta de 4% de proteína bruta (PB), apresentaram essa taxa por volta de 120 mM (Brito, 1998). Por outro lado, semelhante ao que acontece com os monogástricos, caso os ruminantes sejam alimentados com crescentes quantidades de proteína na dieta, maior será a excreção de ureia na urina. No experimento de Brito (1998) os mesmos animais carentes em proteína, após receberem uma dieta com altos teores de nitrogênio, não-proteico aumentaram a taxa de excreção de urina urinária para mais de 3.000 mM. Comparando-se o período de carência e de abundância de nitrogênio na dieta, constatou-se que, enquanto a excreção de ureia urinária aumentou cerca de 25 vezes, no plasma este incremento foi de apenas 9,7 vezes, indicando a sensibilidade e o potencial diagnóstico da primeira análise. Contudo, em ruminantes com carência de proteína mantidos em jejum ou anorexia por dois dias, ocorre um

aumento do catabolismo de aminoácidos aumentando os teores de ureia sérica e urinária, falseando a interpretação. Estes teores serão muito mais altos ainda após as primeiras 12 h de realimentação quando a ureia residual do catabolismo se somará à ureia proveniente da digestão da dieta.

Recomenda-se em estudos de perfil metabólico que amostras tanto de sangue como de urina para avaliar os teores de ureia, sejam coletadas na 5ª hora após o oferecimento da alimentação, quando estas concentrações estarão mais indicativas do status proteico do animal.

### **Alantoína e ácido úrico urinários**

A alantoína e o ácido úrico são catabólitos da degradação das purinas, provenientes dos ácidos nucleicos. Seus limiares de excreção renal são muito baixos sendo com facilidade excretados na urina. Nos ruminantes, cerca de 85% ou mais das purinas são oriundas dos ácidos nucleicos dos micro-organismos ruminais digeridos no abomaso e intestino delgado e absorvidos neste último órgão. Ou seja, a alantoína e o ácido úrico são indicadores do metabolismo ruminal recente, informando indiretamente a quantidade de micro-organismos presentes no órgão, os quais aumentarão em número de acordo com a qualidade nutricional e a ingestão de alimentos pelo ruminante (Puchala & Kulasek, 1992). Experimentos demonstraram que quanto menor a quantidade de energia e de proteína dietética ingerida, menor será a excreção de alantoína e de ácido úrico na urina. O jejum provoca uma diminuição na taxa de excreção urinária de alantoína e de ácido úrico.

Do ponto de vista prático, o ácido úrico tem a vantagem de ser dosado mais rapidamente por meio de um kit diagnóstico. Porém, esta substância é produzida no organismo e eliminada na urina em menor concentração, exigindo maiores cuidados na análise. A determinação da alantoína ainda tem uma metodologia demorada e trabalhosa, apesar de ser mensurada por um disponível método colorimétrico (Borchers, 1977). Estas provas ainda necessitam ser melhor conhecidas para serem utilizadas em análises rotineiras de diagnóstico laboratorial de problemas nutricionais.

## Referências

- Borchers, E. (1977). Allantoin determination. *Analytical Biochemistry*, 79, 612-613.
- Brenner, B.M. (1996). *The Kidney*. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia, USA: W.B. Saunders Company.
- Brito, L. A. (1988). *Avaliação do uso intensivo de cama de frango na alimentação de bovinos: alguns aspectos toxicológicos e do metabolismo da amônia*. Doutorado em Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Buscher, C. & Klee, W. (1993). Investigations on the pre- and post-operative course of pH and net acid-base excretion in the urine of dairy cows with abomasal displacement. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 100, 171-176.
- Chen, B., Grubic, G., Orskov, E. R. & Osuji, P. (1992). Effect of feeding frequency on diurnal variation in plasma and urinary purine derivatives in steers. *Animal Production*, 55, 185-191.
- Goff, J. P. & Horst, R. L. (1997). Effects of the addition of potassium or sodium, but not calcium, to pre-partum rations on milk fever in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 80, 176-186.
- Herd, T. H. (1988). Metabolic diseases of ruminant livestock. *The Veterinary Clinics of North America- Food Animal Practice*, 4, 213-439.
- Herd, T. H. (2000). Metabolic disorders of ruminants. *The Veterinary Clinics of North America- Food Animal Practice*, 16, 215-408.
- Kaneko, J. J., Harvey, J. W., Bruss, M. L. (1997). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5<sup>th</sup> ed. San Diego, USA: Academic Press.
- Leal, M. L., Ortolani, E. L. & Maruta, C. A. (2000). Estudo comparativo da capacidade alcalinizante de tampões metabolizáveis em bovinos hípidos. In *Anais do XXVII Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*, Águas de Lindóia (p.16-17).
- Lubetskaya, T. & Melnichuck, D. (1999). Urine pH as an index for calculating the amount of bicarbonate for treatment of acidotic calves. *Journal of Animal and Feed Science*, 8, 247-254.
- Malnik, G. & Marcondes, M. (1986). *Fisiologia renal*. 3<sup>a</sup> ed. São Paulo, Brasil: Editora Pedagógica e Universitária Ltda.
- Ortolani, E. L., Mendes Netto, D. & Maruta, C.A. (1997). O uso do pH urinário para estimar o grau de acidose metabólica em garrotes com acidose láctica ruminal. In: *Anais do XXV Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*, Gramado, p.215.
- Ortolani, E. L., Kitamura, S. S., Maruta, C. A., Antonelli, A. & Soares, P. C. (2002). Diuresis alleviates ammonia poisoning in cattle through ammonium excretion in the urine. In *Anais do XXII Congresso Mundial de Buiatria*, Hannover.
- Osbaldiston, G. W. & Moore, W. E. (1971). Renal function tests in cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 159, 292-301.
- Puchala, R. & Kulaseck, G. W. (1992). Estimation of microbial protein flow from the rumen of sheep using nucleic acid and urinary excretion of purine derivatives. *Canadian Journal of Animal Science*, 72, 821-830.

- Ruiz-Moreno, M. J., Silva, J. H., Díaz, I. et al. (1997). Variación de algunos parámetros urinarios y hemáticos en ovejas gestantes bajo riesgo de cetosis. *Revista de Medicina Veterinaria (Buenos Aires)*, 78, 249-256.
- Shupe, J. L. (1980). Clinicopathologic features of fluorine toxicosis in cattle. *Journal of Animal Science*, 51, 746-757.
- Underwood, E. J. & Suttle, N. F. (1999). *The mineral nutrition of livestock*, 3<sup>rd</sup> ed. Wallingford, UK: CABI Publishing.



## **5. Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos**

*Fernando Wittwer  
Universidade Austral do Chile*

Nos rebanhos leiteiros de alta produção é importante obter um correto balanço nutricional, especialmente nos períodos de maiores requerimentos, que correspondem ao início da lactação. No período inicial da lactação a vaca chega ao máximo de sua produção, apesar de o consumo de alimento estar deprimido, devendo mobilizar as suas reservas corporais para preencher os elevados requerimentos metabólicos. Neste período ocorre também a época de reprodução, fato importante de considerar, uma vez que o aumento das demandas metabólicas diminui a fertilidade das vacas e, com isso, a meta de obter uma cria ao ano.

As doenças metabólicas ou doenças da produção, são provocadas por um desequilíbrio entre os nutrientes que ingressam ao organismo animal (glicídeos, proteínas, minerais, água), o seu metabolismo e os egressos através das fezes, a urina, o leite e o feto. Os desbalanços nutricionais que afetam os rebanhos são produzidos devido a que o aporte ou a utilização dos alimentos não é capaz de preencher os requerimentos de manutenção ou produção. Quando esses desbalanços são de curta duração e não são demasiados severos, o metabolismo do animal pode compensar utilizando suas reservas corporais. Entretanto, se o desbalanço for severo ou moderado, porém persistente, o animal esgota suas reservas corporais e ocorre a doença. Lamentavelmente, a maioria dessas doenças tem um efeito de difícil percepção e atuam limitando a produção das espécies de um modo persistente provocando uma diminuição na rentabilidade da empresa pecuária.

Para o diagnóstico e estudo das doenças metabólicas nutricionais têm sido empregados desde 1970 os perfis metabólicos, exame que permite estabelecer por meio de análises sanguíneas de grupos representativos de animais de um rebanho, seu grau de adequação nas principais vias metabólicas relacionadas com energia, proteínas e minerais, bem como a funcionalidade de órgãos vitais para a produção de leite, como é o caso do fígado. Considerando o anterior, é importante dispor de métodos de diagnóstico

preventivo que permitam manter um controle sanitário nutricional dos animais por meio de exames simples, de baixo custo e que possam ser realizados em amostras de leite ou de urina, a fim de facilitar a sua obtenção e manejo. Embora, esses exames possam ter pouca especificidade, servem como um primeiro sinal de alerta diante do problema, para que em casos de detectar uma alteração, possam ser realizados os diagnósticos pertinentes e, assim, corrigir oportunamente a situação.

Os primeiros antecedentes com relação à avaliação do metabolismo energético em bovinos fazem referência à determinação da concentração de glicose em amostras de sangue, técnica que rapidamente foi deixada de lado considerando o forte controle homeostático hormonal que o organismo mantém sobre sua concentração, o que permite que se mantenha sempre muito constante, independente de fatores associados à dieta. Outro fator que influenciou foi a dificuldade prática para controlar a rápida glicólise *in vitro* produzida nas amostras de sangue. Este fato significou que muitas das “hipoglicemias” diagnosticadas foram um erro de procedimento antes que um diagnóstico de deficiência energética. Da mesma forma, tem sido dosada a concentração de ácidos graxos livres (NEFA) em amostras de sangue. Porém, contrariamente à glicemia, foi observado que este metabólito apresenta uma elevada variação durante do dia, produto do tempo de ingestão e das condições ambientais alheias ao balanço de energia, como é o caso do estresse, limitando assim a sua sensibilidade interpretativa. Além do mais, existem limitações de ordem prática e econômica no manejo da amostra, bem como na metodologia analítica disponível atualmente.

Nos exames de perfil metabólico realizados no nosso laboratório, sugerimos incluir como variáveis para avaliar o balanço energético de vacas leiteiras, a observação da condição corporal, junto com a determinação das concentrações de  $\beta$ -hidroxibutirato ( $\beta$ HGB) e ureia em amostras de sangue ou de leite e, complementarmente, colesterol e a enzima aspartato transaminase (AST) no sangue (Tabela 1). No presente trabalho, são discutidos dados relacionados com o uso das variáveis antes enunciadas, fundamentalmente as possibilidades que se apresentam de utilizar, junto com a avaliação da condição corporal, os resultados obtidos nas análises de amostras de leite para o controle da acetonemia e a uremia em alterações produzidas pelo desbalanço de energia e proteína nas vacas.

Tabela 1. Variáveis para avaliar o balanço metabólico de energia em vacas leiteiras

Variável	Intervalo de referência	Interpretação
Condição corporal	Escore de 2,5 a 4,0 pontos dependendo do estado fisiológico	Depende da acumulação de reservas lipídicas
$\beta$ -hidroxibutirato	Pré-parto: < 0,5 mmol/L Lactação: < 1,0 mmol/L	Aumento por mobilização lipídica (falta de energia)
Ureia	2,5 a 7,0 mmol/L	Depende do balanço ruminal de energia/proteína
Colesterol	Pré-parto: 1,7 a 4,3 mmol/L Lactação: 2,7 a 5,3 mmol/L	Diminui por deficiência de energia/fibra, ou por disfunção hepática Aumento por excesso de gordura na dieta
AST	< 120 U/L	Aumento por lesão hepatocelular secundária à excessiva mobilização lipídica

### Condição corporal em vacas

A determinação da condição corporal (CC) permite avaliar, de forma quantitativa, o grau de depósito ou perda de gordura corporal, ou as reservas de energia. O método consiste em estabelecer, mediante inspeção e palpação, a cobertura de músculo e gordura subcutânea nas áreas dos processos transversos lombares e da fossa ísquio-caudal. Esta avaliação, por ser subjetiva, deve tender a ser realizada pela mesma pessoa. A escala mais utilizada em vacas leiteiras é a de 1 a 5, na qual 1= emaciada; 2= delgada; 3= média; 4= pesada; 5= gorda. Recomenda-se realizar a determinação da CC idealmente em 4 oportunidades durante o ciclo produtivo da vaca leiteira, dados que devem ser tabulados em um gráfico que relacione o estado fisiológico (eixo do  $x$ ) com a CC (eixo do  $y$ ). Os valores recomendados são de 3,0 a 4,0 desde que a vaca é seca até o parto, diminuindo para 2,5 a 3,0 até os 2 meses de lactação e depois recuperando aos 3 meses de lactação para 2,5 a 3,5 pontos. Destaca-se que o mais importante é a variação da CC entre dois períodos, a qual idealmente deve ser de 0,5 e nunca superior a 1,0 ponto.

### $\beta$ -hidroxibutirato

Os corpos cetônicos,  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB) e acetoacetato, são produtos fisiológicos do metabolismo de glicídeos e lipídeos de ruminantes. Seus precursores são as gorduras e os ácidos graxos da dieta, bem como os depósitos de gordura do animal. O

ácido butírico da dieta é transformado no epitélio dos pré-estômagos, via acetoacetato, em  $\beta$ HB, sendo este o principal corpo cetônico do sangue do ruminante hígido. Por outra parte, os ácidos graxos de cadeia longa, produzidos na mobilização de reservas de gordura, são convertidos no fígado em acetoacetato e depois em  $\beta$ HB, o qual pode ser utilizado como fonte de energia e na síntese de gordura no leite. Desta forma, a cetose ocorre quando a produção de corpos cetônicos é maior que a sua utilização, quando existe um déficit de energia (oxalacetato), em decorrência da alta demanda de glicose para produzir lactose.

O limite máximo fisiológico de corpos cetônicos no leite não está estabelecido, embora seja conhecido que este fluido tem uma concentração equivalente a 10-20% do sangue. Autores suecos assinalam um valor limite de 0,4 mmol/L, acima do qual ocorre perda de fertilidade avaliada mediante o incremento do período parto-primeiro cio, parto-primeira inseminação e parto-gestação, além de aumento do número de serviços. Na Alemanha se aceita o limite de 0,25 mmol/L como valor máximo fisiológico, embora estudos mais recentes indicam um efeito sobre a fertilidade com valores de 0,08 mmol/L.

O diagnóstico da cetose foi baseado por anos na determinação dos corpos cetônicos em amostras de urina, leite ou sangue mediante o teste de Rothera, método que tem um nível de detecção acima de 10 mg/dL (equivalentes a 1,7 mmol/L de acetona ou 1,0 mmol/L de  $\beta$ HB). Esta prova reage principalmente com acetona e acetoacetato e, em menor grau com  $\beta$ HB. Na atualidade, é utilizada com bastante sucesso nos perfis metabólicos a determinação de  $\beta$ HB em amostras de sangue, técnica que tem um nível de detecção de 0,1 mmol/L, considerando-se como valor máximo aceitável de 0,5 mmol/L, salvo vacas no início de lactação, nas quais se aceita até 0,8 mmol/L. Ultimamente tem sido realizado estudos para determinar  $\beta$ HB em amostras de leite, devido à facilidade de obtenção de amostras e ao fato que o  $\beta$ HB é estável, diferentemente dos outros corpos cetônicos que são voláteis. Com este objeto tem sido desenvolvido um método semi-quantitativo, baseado em química seca (uso de fitas reagentes), nas quais o  $\beta$ HB da amostra de leite reage com os reativos da fita, produzindo uma reação de cor violeta cuja intensidade é proporcional à concentração do  $\beta$ HB na amostra, entregando desta forma resultados em 6 faixas correspondentes a: 0; 0,05 a 0,1; 0,1 a 0,2; 0,2 a 0,5; 0,5 a 1,0 e mais de 1,0 mmol/L. Esta técnica está destinada para entregar uma informação geral básica, de caráter primário, para orientar sobre a condição de cetose em uma vaca, devendo, em casos positivos, continuar com métodos diagnósticos de maior precisão.

Em um trabalho realizado para avaliar um sistema de controle semanal preventivo da cetose subclínica em vacas de alta produção no início da lactação em dois rebanhos que usavam silagens de milho de boa qualidade foi observado que todos os animais tiveram reação negativa e somente duas vacas tiveram reação positiva a 0,1 mmol/L de  $\beta$ HB. Pelo contrário em rebanhos que utilizavam silagem de pastagem de regular ou baixa qualidade se observou por volta de 5% das amostras com valores superiores a 0,1 mmol/L, assinalando que o maior aporte de ácido butírico dessas silagens induziu uma cetogênese ruminal (Figura 1). Os dados relatados indicam que a determinação semi-quantitativa de  $\beta$ HB em amostras de leite, mediante química seca, parece ser um método sensível, simples, prático e rápido para levar um controle preventivo da cetose subclínica em vacas leiteiras, requerendo ainda maiores informações do seu emprego nas nossas condições, especialmente no referente ao número e tipo de animais a serem examinados. Os resultados devem ser considerados como uma ajuda preliminar complementar para um diagnóstico definitivo de cetose destinado a estabelecer as recomendações pertinentes a estabelecer um balanço energético.

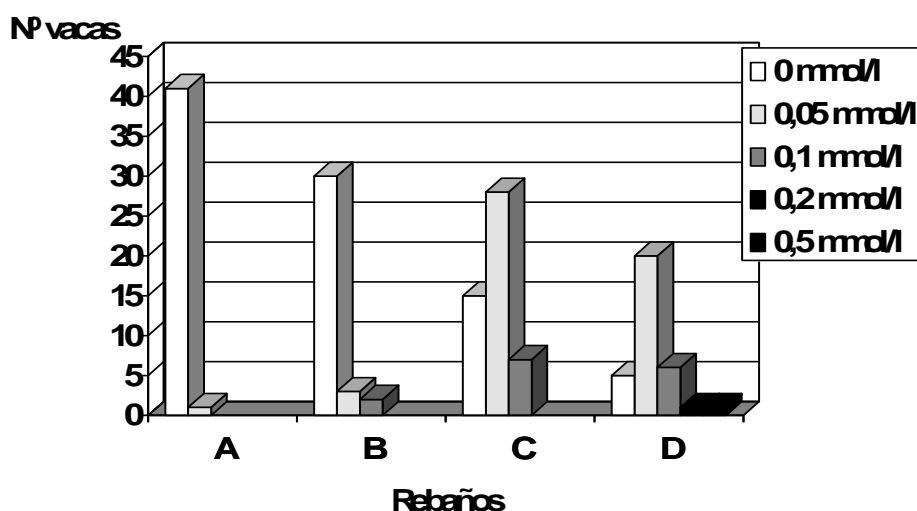


Figura 1. Níveis de  $\beta$ -hidroxibutirato no leite de vacas de rebanhos leiteiros alimentados com silagens de milho de boa qualidade (A e B) e de pastagem de regular qualidade (C e D) (Berger, 1995)

## Ureia

A ureia é um produto de excreção do metabolismo do nitrogênio e a sua determinação em amostras de soro sanguíneo, junto com a albumina, revelam informação sobre a atividade metabólica proteica do animal. 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 um déficit de energia. No bovino, de 60% a 80% da proteína é transformada em amônia no rúmen, que é utilizada pelos micro-organismos ruminais para a síntese de suas proteínas estruturais, sendo o excedente absorvido através da parede ruminal para a circulação geral. 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 na parede ruminal reintegrando-se ao ciclo. O anterior ocorre com a fração correspondente à proteína degradável, a qual está acompanhada no alimento por proteínas não degradáveis que escapam à utilização ruminal, sendo absorvidas na forma de aminoácidos no intestino delgado. A diminuição da ingestão de energia influi inversamente na concentração de amônia ruminal devido à redução da síntese proteína microbiana, elevando a concentração de ureia sanguínea. É importante considerar que a excreção de N representa um gasto em energia para o animal, sendo que o aumento na produção de amônia e ureia não somente reduz o apetite, mas também a eficiência produtiva.

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 ( $r= 0,904$ ;  $p< 0,01$ ). Da mesma forma, há uma associação ( $r= 0,947$ ;  $p< 0,01$ ) entre os valores médios de ureia no sangue de um grupo de vacas com os valores obtidos em amostras de leite de tanques (Figura 2). Estes resultados assinalam que o conteúdo de ureia em amostras de leite de rebanhos é similar à concentração média de ureia sanguínea das vacas em lactação, podendo utilizar a sua determinação como uma forma simples de estimar o balanço de energia:proteína, similar à informação entregue nos perfis metabólicos.

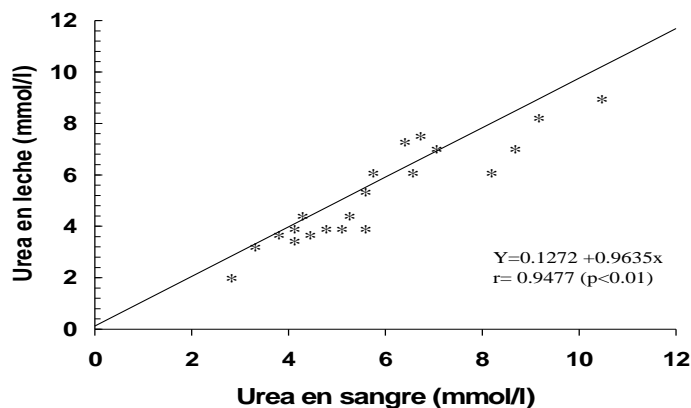


Figura 2. Relação entre as concentrações de ureia em amostras de sangue e leite de tanque de 21 rebanhos (Wittwer, 1993)

### Estudo de perfis metabólicos

Dos estudos de perfis metabólicos realizados no Chile, pode ser destacado que a alteração mais frequentemente diagnosticada (9,4%) é o aumento da ureia, observado com maior frequência nos rebanhos leiteiros do sul do país, durante a primavera e afetando preferentemente as vacas no pré-parto. Estudos posteriores realizados nessa zona com amostras de leite em tanques de 82 propriedades, medidas mensalmente durante um ano, mostraram um valor de ureia de  $4,9 \pm 1$  mmol/L, com intervalo de 1,5 a 11,6 mmol/L (Tabela 2). Valores similares foram relatados na Noruega e na Finlândia, enquanto que os valores obtidos no sul da Alemanha e na Pensilvânia (EUA) são menores e com uma variação menor intra e inter-rebanhos, revelando diferenças na alimentação. A elevada variação estacional com valores altos de ureia na primavera e no outono e valores baixos no inverno e no verão, refletem as mudanças nutricionais a que são submetidas as vacas em pastagem, em função do conteúdo de proteínas da forragem e o aporte de energia da dieta. Este fato explica a maior prevalência de rebanhos com valores elevados entre setembro a novembro e abril e maio e valores diminuídos entre fevereiro a março (Figura 3).

Tabela 2. Valores de ureia em amostras de leite de 82 rebanhos, intervalos de referência e coeficientes de variação (CV) intra e inter-rebanhos (Wittwer et al., 1999)

	Média	Desvio padrão	Intervalo
Uréia (mmol/L)	4,9	1,2	1,5 - 11,6
CV anual intra-rebanhos (%)	25,3	6,1	13,5 - 47,2
CV mensal inter-rebanhos (%)	26,4	2,8	20,1 - 31,3
Valor de referência (mmol/L)			2,5 - 7,0

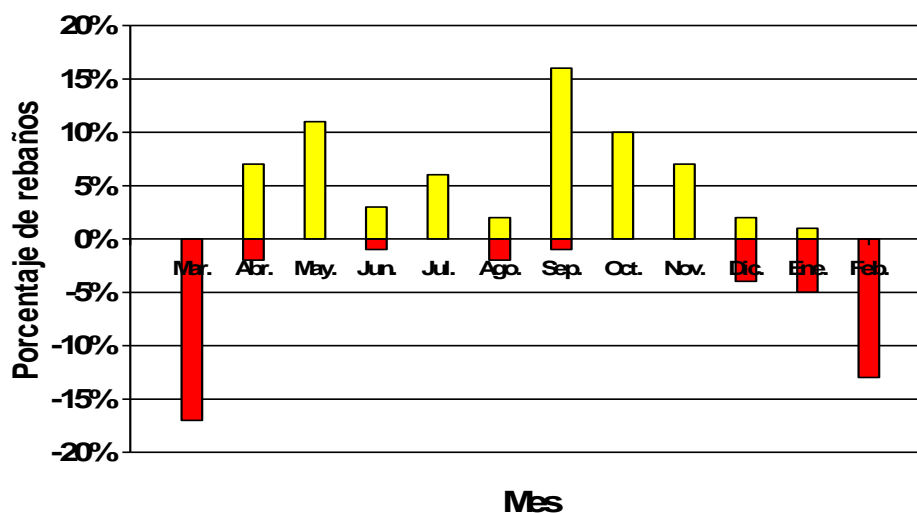


Figura 3. Percentual mensal de amostras de 82 rebanhos com valores de ureia no leite superior e inferior ao intervalo de referência (2,5-7,0 mmol/L) (Wittwer et al., 1999)

### Interpretação

A quantidade de ureia, tanto no sangue quanto no leite, é dependente da relação energia:proteína, onde um aporte deficiente de proteínas está associado com valores diminuídos de ureia, enquanto que valores elevados de ureia indicam um aporte excessivo de proteínas (degradáveis + solúveis) no rúmen, ou então um aporte deficitário de energia. Com o objetivo de definir a qual destas duas últimas causas corresponde o incremento da ureia é útil determinar, junto com a ureia, a concentração de proteínas no leite, para realizar a sua interpretação de forma conjunta.

O conteúdo de proteínas do leite é dependente diretamente do aporte de energia da dieta, considerando como normal um valor 3,0%, enquanto que valores inferiores indicam uma deficiência de energia. Um aporte deficiente de energia na dieta leva a uma diminuição no conteúdo de proteínas no leite e, por outra parte, um excesso absoluto ou



relativo em relação a energia, de proteínas degradáveis e solúveis no rúmen leva a uma excessiva formação e absorção de amônia ruminal com incremento na concentração de ureia no leite. Baseado neste conceito e na facilidade de dispor de amostras de leite, diversas empresas que desenvolvem programas de controle leiteiro com análises de leite, têm incorporado a determinação de ureia e proteínas, além das análises rotineiras de gordura e conteúdo celular. A interpretação desses resultados está baseada nos resultados entregados na Tabela 3. É importante considerar se o resultado é expresso como ureia ou como N ureico, uma vez que o valor de ureia é 2,14 vezes maior que o valor de N ureico. Também deve ser observada a unidade com que se expressa o resultado pois o Sistema Internacional de Unidades utiliza mmol/L, enquanto alguns laboratórios entregam o resultado no sistema convencional de medida, isto é, mg/dL ou mg/L. Facilmente é possível converter as unidades de um sistema a outro usando o fator 0,167 (1 mg/dL = 10 mg/L = 0,167 mmol/L).

Tabela 3. Interpretação da concentração de ureia e proteínas no leite

<b>Proteínas no leite (%)</b>	<b>Ureia no leite (mmol/L)</b>		
	<b>&lt; 2,5</b>	<b>2,5 - 7,0</b>	<b>&gt; 7,0</b>
< 3,0	Energia: baixa PSR e PDR: baixas	Energia: baixa PSR e PDR: normal	Energia: baixa PSR e PDR: altas
3,0 - 3,2	PSR e PDR: baixas	Sincronia ruminal	Energia: baixa PSR e PDR: altas
> 3,2	Energia alta PSR e PDR: baixas	Energia alta PSR e PDR: normal	PSR e PDR: altas

PSR= proteínas solúveis no rúmen; PDR= proteínas degradáveis no rúmen.

O excesso de amônia transformada em ureia pode danificar o metabolismo intermediário e influir nas concentrações de glicose, lactato e ácidos graxos livres no sangue e na funcionalidade do corpo lúteo, além de ocasionar uma diminuição da capacidade imunogênica dos macrófagos e da linha branca. Por isto, dentro dos efeitos primários do excesso de proteínas na saúde do rebanho são mencionadas menor fertilidade, suscetibilidade a cetose e lesão ruminal por efeito da amônia sobre as papilas com perda do apetite e menor produção. Também é relatado que o excesso de ureia altera a formação do tecido dos cascos, produzindo maior fragilidade deles em vacas alimentadas com > 18% de proteína cru na dieta. Diversas referências indicam que tanto uma concentração de ureia alta quanto uma baixa, estão associadas com problemas reprodutivos nos rebanhos. O balanço de energia:proteína tem um papel importante no

início da atividade ovárica e na involução uterina do puerpério inicial. Assim, a sua alteração provoca um atraso no início da atividade ovárica e, com isto, uma diminuição na fertilidade. Esta relação com a fertilidade tem sido associada ao efeito tóxico metabólico da ureia, que compromete a sobrevivência de gametas ou embriões por sua difusão no trato reprodutivo e no muco vaginal alterando o ambiente uterino levando a mortalidade embrionária, além do efeito espermicida, manifestando-se com estros silentes e ciclos estrais irregulares. Atualmente é assinalado que a uremia seria unicamente um sinal de deficiência de energia, que altera a função do eixo hipotálamo-hipófise-ovário com diminuição da progesterona plasmática, atrasando a primeira ovulação e diminuindo a taxa de concepção. Em um trabalho realizado no sul do Chile foi observado que a taxa de gestação ao 1º serviço de 2.153 vacas diminuiu quando a concentração de ureia no leite no período de cobertura era > 7,0 mmol/L, resultado similar ao relatado em Cornell (EUA) por Butler et al. (1996) (Figura 4).

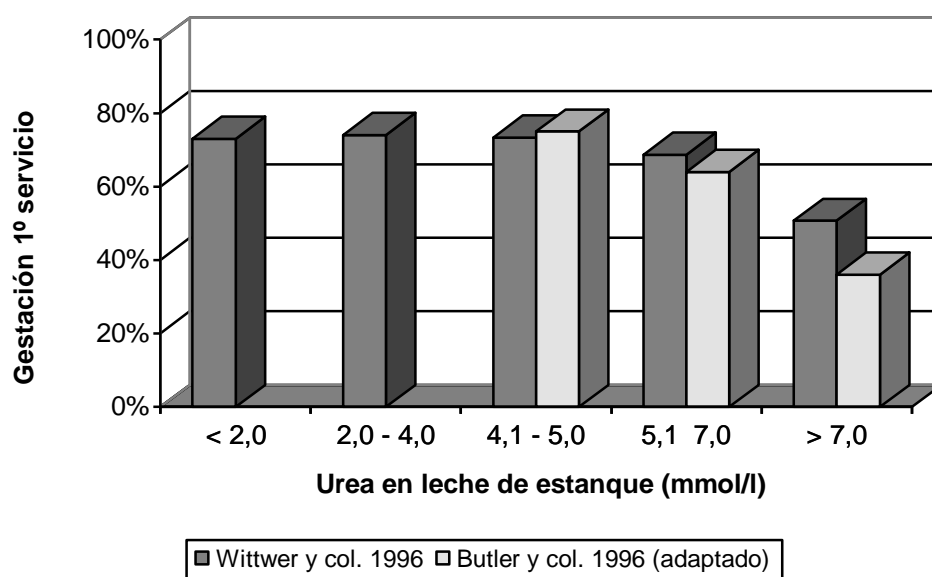


Figura 4. Taxa de gestação ao 1º serviço em 2.153 vacas de 24 rebanhos conforme a concentração de ureia no leite de tanques no período de inseminação (Wittwer et al.) ou de ureia no leite de cada vaca (Butler et al., n= 155) no dia da inseminação.

Um excesso de ureia no leite está relacionado com uma maior eliminação de N pelas fezes e a urina, o que implica um desperdício do ponto de vista produtivo e atua como contaminante do meio ambiente. Por outra parte, diversos autores têm assinalado que o excesso de ureia no leite poderia ter alguns efeitos adversos nos processos de

industrialização do leite. Assim, atualmente são realizados estudos tendentes a estabelecer sua relação com relação a produção de queijo, tempo de coagulação, estabilidade ao calor e outras variáveis do processamento do leite. Os dados atualmente disponíveis com relação ao conteúdo de ureia no leite têm levado a que uma série de países incorporem a sua determinação dentro das análises rotineiras no controle leiteiro. Assim, instituições da Alemanha, Dinamarca, Eslovênia, Suécia, Finlândia, Noruega, Canadá e EUA aplicam esta prática atualmente e agora está sendo iniciada no Chile.

## Conclusão

As análises da condição corporal e das concentrações de  $\beta$ HBA y de ureia em amostras de sangue ou de leite, representam uma interessante alternativa para o controle preventivo de desbalanços metabólicos nutricionais de energia provenientes da dieta, especialmente no início da lactação em vacas de alta produção. O uso do leite como amostra constitui uma forma de facilitar os programas de prevenção de desbalanços metabólicos, associado à possibilidade de utilizar técnicas simples como são o uso de fitas reagentes ou junto a outros programas, como é o controle leiteiro.

## Referências

- Bastidas, P., Forrest, D. W., Del Vecchio, R. P. & Randel, R.D. (1990). Biological and immunological luteinizing hormone activity and blood metabolites in postpartum Brahman cows. *J. Anim. Sci.*, 68, 2771-2778.
- Blanchard, T., Ferguson, J., Love, L., Takeda, T., Henderson, B., Hassler, J. & Chalupa, W. (1990). Effect of dietary crude-protein type on fertilization and embryo quality in dairy cattle. *Am. Journal Vet. Res.*, 51, 905-908.
- Butler, W. R., Calaman, J., Beam, S. W. (1996). Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy herds. *J. Dairy Sci.*, 74, 858-865.
- Canfield, R. W., Sniffen, C. J. & Butler, W. R. (1990). Effect of excess degradable protein on post-partum reproduction and energy balance in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 73, 2342-2349.
- Carlsson, J. & Pehron, B. (1993). The relationships between seasonal variations in the concentration of urea in bulk milk and the production and fertility of dairy herds. *J. Vet. Med.*, 40, 205-212.
- Dirksen, G. & Bretiner, W. (1993). A new quick test for semiquantitative determination of  $\beta$ -hydroxybutiric acid in bovine milk. *J. Vet. Med. A*, 40, 779-784.
- Ferguson, D. J. (1991). Nutrition and reproduction in dairy cows. *Vet. Clin. N. Amer. Food. Anim. Pract.* 7, 483-507.

- Miettinen, P. & Setälä, J. (1993). Relationships between subclinical ketosis, milk production and fertility in Finnish dairy cattle. *Prev. Med. Vet.* 17, 1-8.
- Whitaker, D. A., Smith, E. J., Da Rosa, G. O. & Kelly, J. M. (1993). Some effects of nutrition and management on the fertility of dairy cattle. *Vet. Rec.*, 133, 61-64.
- Whitaker, D. & Kelly, J. (1995). *Use and interpretation of metabolic profiles in dairy cows*. Department of Veterinary Clinical Studies, University of Edinburgh.
- Wittwer, F., Böhmwald, H., Contreras, P. A. & Filoza, J. (1987). Análisis de los resultados de perfiles metabólicos obtenidos de rebaños lecheros en Chile. *Arch. Med. Vet.*, 19, 35-45.
- Wittwer, F., Opitz, H., Reyes, J., Contreras, P. C. & Böhmwald, H. (1993). Diagnóstico de desbalance nutricional mediante la determinación de urea en muestras de leche de rebaños bovinos. *Arch. Med. Vet.*, 25, 165-172.
- Wittwer, F., Saelzer, P., Knopel, A. & Gallardo, P. (1994). Bulk milk urea in dairy herds and its relation to fertility. In *6<sup>th</sup> Congress of the International Society for Animal Clinical Biochemistry*. Guelph, Canada. (pp. 136).
- Wittwer, F., Gallardo, P., Reyes, J. & Opitz, H. (1999). Bulk milk urea in grazing dairy herds. *Vet. Prev. Med.*, 38, 159 - 166.
- Zadnic, T., Nemeč, M., Klopčič, M. & Pengov, A. (1996). The results of two years investigation of urea content in bulk milk samples. In *7<sup>th</sup> Congress of the International Society on Animal Clinical Biochemistry*. Glasgow, UK.

## **6. Marcadores bioquímicos no controle de problemas metabólicos nutricionais em gado leiteiro**

*Fernando Wittwer  
Universidade Austral do Chile*

O processo de intensificação nos sistemas de produção de leite, requerido para alcançar uma adequada rentabilidade na empresa pecuária, tem levado a um aumento do risco de apresentação de transtornos metabólicos nos rebanhos leiteiros, em função de que facilmente podem ocorrer desequilíbrios entre o ingresso de nutrientes ao organismo, a capacidade para metabolizar esses componentes e os níveis de produção alcançados. As “doenças de produção” são transtornos metabólicos que se apresentam em grupos de animais de produção, induzidos por medidas de seleção ou manejo e que têm como causa um desequilíbrio entre o ingresso de um ou mais nutrientes ao organismo, sua biotransformação e os egressos.

O conceito de transtorno metabólico nutricional deve ser entendido em forma diferente se referido a um indivíduo ou a um grupo de indivíduos em um sistema produtivo. Em um indivíduo refere a uma doença metabólica ou alteração da capacidade de homeostase produto da mudança no grau de transformação de um processo metabólico relacionado com um nutriente. Em um rebanho, refere a uma doença de produção ou desequilíbrio entre o volume de ingressos (aporte e consumo da dieta), circulação (transporte e biotransformação) e egressos (resíduos metabólicos + produção) de um nutriente em grupos de animais de um sistema produtivo.

A capacidade de um animal para se ajustar a um balanço negativo depende do volume de suas reservas corporais disponíveis. Pelo contrário, a adaptação a um balanço positivo depende de sua capacidade metabólica para armazenar reservas. Os balanços nutricionais negativos são a causa da maioria das doenças de produção. Embora seja comum algum grau de deficiência em alguns períodos, especialmente no início da lactação, a linha entre saúde e doença é facilmente atravessada. A vaca de alta produção enfrenta ao início da lactação uma série de situações de estresse metabólico nutricional que requer diversos processos de adaptação para poder manter sua homeostase e não cair nos transtornos metabólicos (Tabela 1).

Tabela 1. Problemas metabólicos da vaca de alta produção

<b>Ingressos</b>	<b>Circulação</b>	<b>Egressos</b>
Apetite aumentado ↓ Sobrecarga ruminal Fermentação instável ↓ Acidose ↓ Laminite ↓ Úlcera da sola	Mobilização tissular ↓ Cetose ↓ Esteatose hepática ↓ Anorexia ↓ Diminuição da produção	Elevada produção ↓ Excessiva perda de peso ↓ Anestro ↓ Fertilidade reduzida

Marcadores bioquímicos são substâncias cuja determinação em amostras de tecidos ou fluidos de animais, permitem estabelecer o grau de adequação metabólica ou de homeostase em um processo bioquímico do organismo de um animal ou grupo de animais. Nos últimos anos tem sido desenvolvida e usada, em diversos países e condições de manejo, a medição de metabólitos sanguíneos sob a denominação de perfil metabólico, técnica que tem sofrido diferentes variações e adaptações de acordo com as necessidades e realidades locais. Os marcadores que têm adquirido popularidade por sua simplicidade são a determinação da condição corporal e o uso do leite como amostra para a análise de metabólitos. Isto devido à facilidade de obtenção e manejo, podendo ser analisada junto com outros exames associados a programas de qualidade do leite e de controle leiteiro.

### **Perfil metabólico**

O perfil metabólico (PM) é um exame complementar empregado no estudo e diagnóstico de desequilíbrios nutricionais, que mede, em amostras de tecidos ou fluidos de animais representativos de um rebanho, a concentração de metabólitos indicadores de energia, proteínas e minerais, comparando seus resultados com valores referenciais populacionais. São objetivos do perfil metabólico: (i) avaliar a condição metabólica nutricional de um grupo de animais, (ii) diagnosticar a presença de transtornos metabólicos em um rebanho, (iii) manter um controle do balanço metabólico e condição sanitária do rebanho, e (iv) servir de instrumento de avaliação metabólica em ensaios. Em

uma frase, o objetivo do PM é obter o quanto antes a opinião de um grupo de vacas sobre a sua dieta.

Algumas condições em que o PM pode ser empregado incluem problemas no volume ou na qualidade da produção de leite, elevada incidência de transtornos metabólicos, controle do balanço metabólico de energia-proteína, diagnóstico ou avaliação de deficiências minerais e pesquisa de problemas de fertilidade. O PM não é um exame nutricional, uma vez que os metabólitos não são indicadores da condição nutricional dos indivíduos, mas assinalam quando tem sido alterada a capacidade de homeostase, sendo, portanto, indicadores do balanço metabólico nos animais. Por isto, o PM constitui um complemento das indicações do nutricionista para orientar o médico veterinário nas suas decisões.

### **Amostras e variáveis**

O procedimento para aplicar o PM em um rebanho está baseado na amostragem de um ou mais subgrupos de 7 indivíduos, representativos dos grupos de animais do rebanho, nos quais interessa estabelecer a sua condição metabólica ou sanitária. Para este objetivo, entende-se como grupo o conjunto de animais de similar condição genética, fisiológica, de alimentação e manejo. Em um rebanho leiteiro comumente são obtidas amostras de dois grupos, a saber: 7 vacas nos dois últimos meses de gestação e 7 vacas no início da lactação.

As variáveis bioquímicas sanguíneas comumente determinadas são: o beta-hidroxi-butirato que junto com a condição corporal representam o metabolismo energético, a ureia, a albumina e as globulinas representando o metabolismo proteico, o fósforo e o magnésio pelos elementos minerais e a hemoglobina representando a condição geral. O número de variáveis potencialmente mensuráveis no PM é ilimitado, 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. Por outra parte, também são requeridos métodos e equipamentos que façam economicamente viável a sua determinação, além de valores de referência que permitam a comparação com os resultados obtidos. Na Tabela 2 são mostradas algumas variáveis que podem ser empregadas no PM.

Tabela 2. Parâmetros usados no perfil metabólico de ruminantes

Parâmetro	Fluido	Valor de referência	Limitação		
			Sensibilidade	Especificidade	Outra
Glicose	Sangue	2,5-4,1 mmol/L	+++		Glicólise da amostra
Ácidos graxos livres	Plasma	300-600 µmol/L		+++	Alta variação
Corpos cetônicos	Urina, leite	< 1,0 mmol/L			Sensibilidade técnica
β-OH-butirato	Plasma, leite	< 0,5 mmol/L			
Colesterol	Plasma	3,0-5,0 mmol/L		+	
Condição corporal			+++	+	
Hemoglobina	Sangue	9,0-13,0 g/dL		+++	
Ureia	Plasma, leite	2,6-7,0 mmol/L		+	
Albumina	Plasma	30-41 g/L	++	+	
Cálcio	Plasma	2,0-2,6 mmol/L	+++		
Fosfato	Plasma	1,1-2,3 mmol/L		+	Aumento <i>in-vitro</i>
Magnésio	Plasma	0,7-1,1 mmol/L			
Magnésio	Urina	1 mmol/L			
Sódio	Saliva	110-130 mmol/L			
Potássio	Saliva	< 10 mmol/L			
Cobre	Plasma	10-22 µmol/L			
Zinco	Plasma	8-24 µmol/L			Contaminação
Selênio (GPx)	Sangue	> 60 U/g Hb			
Iodo (T <sub>4</sub> )	Plasma	> 15 nmol/L	+	+	

### Manejo e apresentação dos dados

O manejo dos resultados gerados pelas análises de laboratório deve ser realizado mediante o uso de programas de computação que permitam calcular médias e desvios para compará-los com valores de referência e gerar tabelas que permitam compreender facilmente seus significados, bem como gráficos ou histogramas, que facilitem a comparação das diferenças entre as médias de referência com as obtidas para cada variável. Na Tabela 3 aparece um exemplo de um PM de um grupo de 7 vacas da raça Holandesa na 3ª semana de lactação.



Tabela 3. Perfil metabólico em grupo de 7 vacas de raça Holandesa na 3ª semana de lactação

Vaca	Leite (L/dia)	CC (1-5)	BHB (mmol/L)	Ureia (mmol/L)	Proteína (g/L)	Albumina (g/L)	Globulinas (g/L)	P (mmol/L)	Mg (mmol/L)
125	15	3,0	0,55	3,5	78	31	47	1,6	0,68
459	19	3,0	0,89	4,0	75	33	42	1,9	0,91
895	24	3,0	0,94	5,3	73	36	37	2,1	0,84
555	25	2,5	1,55	4,9	84	35	49	2,0	0,75
635	23	2,5	1,24	4,7	86	37	49	1,8	0,80
887	17	3,0	0,79	3,7	72	38	34	1,6	0,67
567	18	3,5	0,26	5,5	96	31	65	2,0	0,44
Grupo									
Média	18	2,9	0,89	4,5	81	34	46	1,9	0,73
Desvio	6,0	0,3	0,39	0,7	8	3	9	0,2	0,15
H*	-0,4	-0,2	5,9	-0,3	0,5	-0,3	1,0	0,6	-0,7
Valor de referência									
Média	20	3,0	0,24	4,8	78	35	40	1,7	0,90
Desvio	5	0,5	0,11	1,1	6	3	6	0,3	0,25

Valor de  $H = x$  (média obtida) –  $X$  (média de referência) / desvio padrão da referência. Aceita-se um valor máximo de  $H$  de 2.

### Interpretação

A interpretação correta de um PM é o aspecto mais difícil de realizar. Considera-se que uma variação é significativa quando: (i) a média de uma variável em um grupo supera em 2 vezes o desvio padrão à média populacional; (ii) o percentual de indivíduos de um grupo de animais com valores alterados em uma variável é superior a 19%; (iii) o desvio padrão é maior que o da referência, devido a uma elevada variância do grupo. O veterinário encarregado do rebanho deverá julgar a transcendência que podem ter as alterações detectadas em relação com os problemas apresentados considerando os antecedentes de alimentação, produção e manejo do rebanho. As mudanças na concentração sanguínea de um elemento são provocadas não somente por variações no seu aporte, mas também pelo aporte de outros elementos, devidos às estreitas inter-relações metabólicas que existem no organismo. Também deve ser considerada a sensibilidade do indicador empregado como variável. Assim, para a glicemia e a calcemia, os mecanismos hormonais da sua homeostase mantém constante a sua concentração sanguínea, sendo, portanto, pouco sensíveis.

No Chile, vêm sendo empregados os PM desde o ano 1979, havendo desde então diversos estudos tendentes a aperfeiçoar e atualizar esta técnica, junto com a obtenção de valores de referência atualizados e a pesquisa dos principais problemas metabólicos que se apresentam nos bovinos. Durante os últimos anos, tem sido desenvolvida e

implementada a determinação de ureia e proteínas no leite por parte de empresas de controle leiteiro. Simultaneamente, tem sido estudado em quais zonas, períodos fisiológicos e estações do ano ocorrem com maior frequência os problemas metabólicos nutricionais. A seguir, apresenta-se um resumo das conclusões obtidas da análise destes resultados:

- Transtornos mais frequentemente diagnosticados em gado leiteiro:

- Aumento de  $\beta$ -OH-butilato por deficiência de energia (8,5%)
- Uremia por desequilíbrio de energia-proteínas no rúmen (6,5%)
- Anemias secundárias a distomatose ou nutricional (6,1%)
- Hipomagnesemia associadas a uremia e excesso de K na dieta (5,3%)
- Deficiência de fósforo (3,4%)
- Infecções inespecíficas (3,4%)
- Desnutrição proteica (3,1%)

- Grupos com maior incidência de problemas:

- Vacas em início de lactação (30%)
- Vacas no pré-parto (24%)
- Vacas com produção maior de 15 L/dia (21%)
- Vacas com produção menor de 15 L/dia (32%)

- Períodos do ano com maior frequência de alterações:

- Inverno (32%)
- Verão (20%)
- Primavera (15%)
- Outono (14%)

No Chile, similarmente a outros países do mundo, os produtores de gado leiteiro estão enfrentados a aumentar sua produção com o objetivo de melhorar a sua eficiência. É por isso lógico supor que os problemas relacionados com as doenças da produção deverão apresentar-se de forma mais evidente em um futuro imediato. Este fato visualiza que o uso dos marcadores bioquímicos nos rebanhos leiteiros será cada vez maior e necessário. Quem trabalha neste setor deverá dispor de um adequado conhecimento nesta área para poder enfrentar as alterações metabólicas nutricionais, conseguindo assim não somente diagnosticar os problemas, mas também preveni-los.

## Referências

- Blowey, R. W. (1975). A practical application of metabolic profiles. *Vet. Rec.*, 95, 324-327.
- Miettinen, P. (1990). *Metabolic balance in the prediction of reproductive performance in dairy cows*. Kuopio, Finland: Kuipio University Printing Office.
- Oyarzun, J. (1997). Análisis de los resultados de perfiles metabólicos obtenidos en rebaños lecheros en Chile, 1980-1996. Tesis Licenciatura en Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.
- Payne, J. M. (1972). The future of presymptomatic diagnosis. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 65, 181-183.
- Pelletier, G., Tremblay, A. V. & Helie, P. (1985). Facteurs influençant le profil métabolique des vaches laitières. *Can Vet. J.*, 26, 306-311.
- Rowlands, G. J. (1980). Metabolites in the blood of beef and dairy cattle. *Wld. Rev. Nutr. Diet*, 35, 172-235.
- Seglar, W. (1997). Maximizing forage quality. *The Compendium*, 19, 254-261.
- Sommer, H. (1985). Control de la salud y del aporte de nutrientes en las vacas lecheras. *Not. Med. Vet.*, 1, 13-35.
- Webster, J. (1993). *Understanding the dairy cow*. Oxford, UK: Blackwell Science.
- Whitaker, D. & Kelly, J. (1995). *Use and interpretation of metabolic profiles in dairy cows*. Department of Veterinary Clinical Studies, University of Edinburgh.
- Whitaker, D. A., Goodger, W. J., Garcia, M., Pereira, O. & Wittwer, F. (1999). Use of metabolic profiles in dairy cattle in tropical and subtropical countries on smallholder dairy farms. *Vet. Prev. Med.*, 38, 119-131.
- Wittwer, F. & Contreras, P. (1980). Empleo de los perfiles metabólicos en el sur de Chile. *Arch. Med. Vet.*, 12, 179-188.
- Wittwer, F. (1996). Diagnóstico de desbalances de energía y proteínas mediante el análisis de muestras de leche y su impacto productivo en rebaños lecheros. In Lanuza, F. & Bortolameolli, G. Aspectos técnicos y perspectivas de la producción de leche. *Serie Remehue*, 64, 71-84.
- Wittwer, F., Böhmwald, H., Contreras, P. A. & Filoza, J. (1987). Análisis de los resultados de perfiles metabólicos obtenidos de rebaños lecheros en Chile. *Arch. Med. Vet.*, 19, 35-45.
- Wittwer, F., Opitz, H., Reyes, J., Contreras, P. C. & Böhmwald, H. (1993). Diagnóstico de desbalance nutricional mediante la determinación de urea en muestras de leche de rebaños bovinos. *Arch. Med. Vet.*, 25, 165-172.
- Woll, J., Bryant, M., Cordes, D., Ramber, G., Saunders, W. M. & Sutherland, R. J. (1978). Can a metabolic profile be developed for New Zealand condition? *N. Z. Vet. J.*, 26, 266-269.

## **7. Uso dos perfis metabólicos no monitoramento nutricional dos ovinos**

*Pedro A. Contreras, Fernando Wittwer & Helga Böhmwald*

*Universidad Austral de Chile*

Os rebanhos ovinos, da mesma forma que os rebanhos bovinos, são afetados por diferentes fatores que limitam a sua produção sendo os seguintes os mais importantes: insuficiente capacidade de gestão para o manejo da unidade produtiva, inadequado manejo da espécie, limitações de ordem genética, presença de desbalanços nutricionais, ação de agentes biopatógenos e carência ou deficiência de registros do rebanho e da unidade produtiva.

As exigências produtivas impostas pelo ser humano mediante a seleção genética e os sistemas de manejo intensivo, têm aumentado o risco de desbalanços nutricionais e doenças metabólicas no rebanho ovino, uma vez que facilmente podem produzir desequilíbrios entre o ingresso de nutrientes no organismo, seu metabolismo e os egressos, situação que Payne (1972), denomina doenças da produção. Estas doenças são produzidas quando: (i) os egressos de um nutriente são maiores que os ingressos; (ii) os ingressos são maiores que os egressos; (iii) existe uma alteração no metabolismo do nutriente; ou (iv) existe uma combinação das situações anteriores.

### **Perfis metabólicos**

Podem ser utilizados diferentes procedimentos para identificar os desbalanços nutricionais nos rebanhos, tais como: análise do conteúdo de nutrientes no solo e na pastagem, observação de sinais clínicos associados a alterações metabólico-nutricionais, resposta à suplementação ou exames de amostras de tecidos e fluídos. Dos exames de fluídos, o sangue é o que, em maior medida, tem sido utilizado, especialmente desde o ano 1970, quando Payne e colaboradores em Compton (Inglaterra) propuseram o uso dos perfis metabólicos. Este teste mede a concentração sanguínea dos metabólitos que representam as distintas vias metabólicas, em grupos de animais do rebanho. Para esse fim devem ser obtidas amostras de sangue de 7 animais por grupo, selecionados ao acaso. As amostras são processadas no laboratório para medir a concentração dos metabólitos.

Os valores médios de cada metabólito obtidos no grupo, são comparados com as médias populacionais de referência e as diferenças existentes são expressadas em unidades de desvio padrão. É considerada variação significativa quando o valor médio de uma variável de um grupo é maior a 2 vezes o desvio padrão da média populacional (Rowlands & Pocock, 1976). Quando é positiva indica um excesso e quando é negativa, uma diminuição. Todavia, a correta interpretação do perfil metabólico é mais complexa que a simples constatação do aumento ou a diminuição de um metabólito. Por isso, o médico veterinário encarregado do rebanho deve avaliar a transcendência do observado no perfil, considerando o problema do rebanho, a alimentação, a produção e o manejo.

As variações da concentração sanguínea de um metabólito podem ser provocadas pelo excesso ou a deficiência de um nutriente na alimentação, mas também existe uma inter-relação de nutrientes, o que pode levar a erro se analisarmos as variações de um metabólito em relação ao simples aumento ou diminuição. A situação pode ser ilustrada com a concentração de ureia. Este metabólito representa a via metabólica proteica, uma vez que depende, de forma direta, do aporte de proteínas degradáveis na ração. Entretanto, o aporte energético da ração também tem efeito sobre a ureia, pois se o consumo de energia for baixo, altera-se o metabolismo dos micro-organismos ruminais e, com isso, o metabolismo das proteínas no rúmen, aumentando a concentração de amônia, o que provoca um aumento nas concentrações de ureia sanguínea. Uma outra característica da ureia é que responde com rapidez a mudanças no aporte de proteínas da ração. Entretanto, outros metabólitos, como a albumina ou a hemoglobina, respondem mais lentamente, devendo existir períodos prolongados de deficiências no aporte proteico para que diminuam suas concentrações sanguíneas.

A glicose é um metabólito que representa a via metabólica da energia. No entanto, ela é pouco sensível às variações do aporte de energia na ração, uma vez que sua concentração sanguínea é regulada por um eficiente mecanismo hormonal destinado a manter constante as concentrações de glicose. Por isso, o déficit de energia deve ser muito intenso para que diminua a concentração de glicose sanguínea. Esta é a razão pela qual este metabólito está sendo substituído pela medição das concentrações de um corpo cetônico, o  $\beta$ -hidroxibutirato, para avaliar o balanço energético.

O teste dos perfis metabólicos, desenvolvido em Compton (Inglaterra) por Payne et al. (1970), foi desenhado originalmente para rebanhos bovinos leiteiros e, como tal, utilizado no Chile desde finais da década de setenta por Wittwer & Contreras (1980).

Posteriormente tem sido utilizado com sucesso nos rebanhos de corte e também nos rebanhos ovinos.

### **Perfis metabólicos em ovinos**

Nos rebanhos ovinos, os requerimentos de nutrientes aumentam durante a gestação, especialmente nas últimas 6 semanas, quando o feto se desenvolve alcançando aproximadamente 70% do seu crescimento (Russel, 1979). Além disso, a ovelha necessita nutrientes para a manutenção e desenvolvimento do tecido mamário. A deficiência de energia durante este período pode provocar acetonemia, morte dos fetos e ovelhas. Durante o último terço da gestação, a ovelha trata de compensar a deficiência de energia mobilizando suas reservas corporais para compensar o déficit. Esta situação é frequente de observar pois, devido aos procedimentos de manejo, a etapa final de gestação no ovino coincide com o período de baixa disponibilidade de pastagens. Os requerimentos nutricionais durante o período de lactação também são altos, sendo a alimentação um fator determinante para a produção de leite, considerando as primeiras 6 semanas de lactação como o período mais crítico, uma vez que é a época em que se atinge a maior produção (Spedding, 1968).

Os minerais têm um importante papel na nutrição, pois eles são necessários para a utilização da energia e da proteína e para a biossíntese de nutrientes essenciais (Thompson & Campabadal, 1978). No exame dos perfis metabólicos em ovinos são medidas geralmente as concentrações sanguíneas de Cu, Pi, Mg, Zn, Se, etc. cujas concentrações no sangue podem estar afetados pela alimentação, além de ser esses minerais os mais comumente envolvidos nos quadros clínicos mais importantes de alteração mineral. No Chile, os primeiros trabalhos publicados sobre o uso de perfis metabólicos em ovinos, são de Del Valle et al. (1983), os quais têm sido usados com sucesso. As razões que com maior frequência motivam a sua utilização são as seguintes: (i) avaliar a condição metabólica nutricional de um grupo de animais; (ii) diagnosticar a presença de transtornos metabólicos em um rebanho; (iii) manter um controle do balanço metabólico e a condição sanitária do rebanho, e (iv) servir de instrumento de avaliação metabólica em ensaios.

Dos diferentes perfis metabólicos que têm sido realizados, foi possível definir os componentes sanguíneos que com maior frequência são utilizados, bem como os valores populacionais de referência para estes metabólitos (Tabela 1).

Tabela 1. Variáveis utilizadas em perfis metabólicos em ovelhas, seus valores de referência e alterações associadas a aumento ou diminuição

Variável	Amostra	Valor de referência	Aumento	Diminuição
Glicose	Sangue	2,4-4,4 mmol/L	Estresse	Déficit energia
Corpos cetônicos	Urina	< 1,0 mmol/dL	Cetose	
βOH-butirato	Plasma/soro	< 0,6 mmol/L	Lipomobilização	
AGL	Plasma/soro	< 0,8 mmol/L	Lipomobilização	
Hemoglobina	Sangue	9,0-13,0 g/dL	Desidratação	Desnutrição, hemólise
Ureia	Plasma/soro	4,0-10,0 mmol/L	Excesso proteína, déficit energia	Déficit proteína
Proteínas	Plasma/soro	66-90 g/L	Desidratação, infecções	Desnutrição
Albumina	Plasma/soro	26-42 g/L	Desidratação	Desnutrição, diarreia
Globulinas	Plasma/soro	31-51 g/L	Infecção	
Cálcio	Plasma/soro	2,1-2,5 mmol/L	Dieta alta relação Ca:P	Hipocalcemia
Fósforo	Plasma/soro	1,0-2,0 mmol/L	Excesso de P	Déficit de P
Magnésio	Plasma/soro Urina	0,7-1,1 mmol/L 1,0 mmol/L	Excesso de Mg	Hipomagnesemia
Sódio	Plasma/soro Saliva	138-154 mmol/L 110-130 mmol/L	Desidratação Excesso de Na	Déficit de Na
Potássio	Plasma/soro Saliva	4,4-7,2 mmol/L < 10 mmol/L	Amostra alterada Excesso de K	Hipocalemia
Cobre	Plasma/soro	17-27 μmol/L	Excesso de Cu	Déficit de Cu
Zinco	Plasma/soro	10-30 μmol/L	Excesso de Zn	Déficit de Zn
Selênio (Gpx)	Sangue	> 60 U/g Hb		Déficit de Se
AST	Plasma/soro	< 90 U/L	Lesão hepática ou muscular	
GD	Plasma/soro	< 7 U/L	Lesão hepática	
GGT	Plasma/soro	< 32 U/L	Lesão hepática-canalicular	
CK	Plasma/soro	< 60 U/L	Lesão muscular	
FA	Plasma/soro	< 160 U/L	Alteração óssea	

Del Valle et al. (1983) estudaram as variações da composição sanguínea realizada em ovelhas Romney Marsh, no pré e no pós-parto no sul do Chile concluindo que os componentes sanguíneos que de melhor forma expressaram as variações do estado nutricional foram a hemoglobina, o hematócrito e a glicose, os quais diminuíram quando os requerimentos nutricionais, aparentemente, não foram preenchidos. Além disso, as variações de hemoglobina e hematócrito apresentaram um alto grau de correlação com as variações de peso vivo e com a condição corporal. Bücher (1998) realizou um estudo em

ovelhas leiteiras Laxta Cara Rubia, com gestação única ou gemelar, mantidas em pastagem natural fertilizada, recebendo na lactação um concentrado comercial para suplementar energia e proteína. A ordenha foi iniciada no desmame dos cordeiros, que ocorreu aos 28 dias e 42 dias, nas que gestaram únicos ou gêmeos, respectivamente. Concluiu que, embora tenha havido perda de peso no pós-parto, posteriormente houve recuperação no período de lactação e que as que pariram gêmeos o fizeram mais tarde, observando uma boa correlação entre o aumento de peso vivo e a condição corporal. A produção de leite diminuiu significativamente, em ambos os grupos de ovelhas, até o final da lactação, ocorrida aproximadamente aos 153 dias. As concentrações de glicose foram constantes e se mantiveram no intervalo normal em ambos os grupos. O  $\beta$ HB teve um aumento significativo até os 110 dias, para diminuir até o final da lactação, situação foi observada em ambos os grupos. A ureia teve uma diminuição significativa até o final da lactação e houve um aumento significativo da albumina. Dessa forma foram sendo expressados os desbalanços nutricionais que afetaram as ovelhas de diferentes raças, nos diferentes estados fisiológicos. Com o conhecimento desta informação o médico veterinário responsável pelo rebanho deverá tomar a decisão de fazer os ajustes na ração, considerando o benefício na saúde dos animais e na rentabilidade que este ajuste possa trazer.

## **Conclusões**

Os rebanhos ovinos são afetados por desbalanços metabólico-nutricionais em diferentes épocas do ano, sendo os períodos do pré-parto e início de lactação os estados fisiológicos de maior risco. Os desbalanços nutricionais se refletem, em maior ou menor medida, nas concentrações de metabólitos no sangue e outros fluídos corporais. O perfil metabólico é uma ajuda para o médico veterinário ter melhor manejo nutricional do rebanho. Com o conhecimento das medidas de manejo e das características da unidade produtiva, ele pode avaliar a transcendência que o perfil possa ter. Utilizando o perfil metabólico, o médico veterinário, poderá tomar as medidas pertinentes para que os desbalanços nutricionais não alterem a saúde e nem a produção do rebanho, considerando o custo-benefício que tais medidas possam provocar.



## Referências

- Bücher, D. (1998). *Caracterización del balance metabólico, energético y proteico en el período de ordeño de ovejas Latxa Cara Rubia a pastoreo*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.
- Del Valle, J., Wittwer, F. & Hervé, M. (1983). Estudio de los perfiles metabólicos durante los períodos de gestación y lactancia en ovinos Romney. *Arch. Med. Vet.*, 15, 65-72.
- Payne, J.M., Sally, M., Dew, M., Manston, R. & Faulks, M. (1970). The use of the metabolic profiles test in dairy herds. *Vet. Rec.*, 87, 150-158.
- Rowlands, G. J. & Pocock, R. (1976). Statistical basis of the Compton metabolic profile test. *Vet. Rec.*, 98, 333-338.
- Russel, A.J.F. (1979). The nutrition of the pregnant ewe. In The British Council. *The management and diseases of sheep*. Edinburgh.
- Spedding, C.R.W. (1968). *Producción ovina*. León, España: Editorial Academia.
- Thompson, D.J. & Campabadal, C.M. (1978). El calcio, fósforo y flúor en la nutrición de los rumiantes. In *Simposio Latinoamericano sobre investigaciones en nutrición mineral de los rumiantes en pastoreo*. Gainesville, USA: University of Florida.
- Wittwer, F. & Contreras, P. A. (1980). Empleo de perfiles metabólicos en el sur de Chile. *Arch. Med. Vet.*, 12, 221-228.

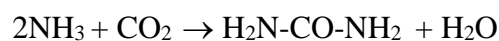
## 8. Indicadores do metabolismo proteico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos

*Pedro A. Contreras.  
Universidad Austral de Chile*

O perfil metabólico também pode colaborar no estudo do balanço nutricional proteico dos rebanhos, uma vez que em algumas situações os desbalanços nutricionais podem influir nas concentrações sanguíneas de alguns metabólitos. Para isto, foi necessário estudar e definir os metabólitos sanguíneos que, da melhor forma, possam representar o metabolismo proteico. Entretanto, é necessário levar em conta algumas considerações: (i) é necessário que exista um procedimento analítico que não apresente grande dificuldade para sua dosagem; (ii) o processamento das amostras deve ter um custo razoável para ser utilizado em grupos de animais; (iii) os componentes sanguíneos utilizados não devem apresentar variações intensas em sua concentração durante o dia, para que os resultados não sejam muito influenciados pela hora do dia em que as amostras de sangue são obtidas; e (iv) o desvio padrão dos valores populacionais dos metabólitos deve ser pequena, para que possa ser utilizado o modelo estatístico, desenvolvido e testado em Compton (Inglaterra) por Rowlands & Pocock (1976) para a interpretação dos perfis metabólicos. Geralmente, os metabólitos mais utilizados são: ureia, albumina, hemoglobina e adicionalmente, para alguns casos particulares, são consideradas as globulinas, cujo valor é obtido por diferença entre as concentrações de proteínas totais e albumina.

### Considerações metabólicas

A ureia apresenta a seguinte sequência de eventos que levam a sua síntese: (a) proteólise e formação de aminoácidos; (b) desaminação de aminoácidos e formação de amônia; e (c) condensação de duas moléculas de amônia com CO<sub>2</sub>. Considerando este conceito, a ureia é o produto da desintoxicação da amônia quando se condensa com o CO<sub>2</sub>, processo que se realiza no fígado e representado na seguinte equação:



Os valores de concentração sanguínea da ureia não são determinados unicamente pela velocidade de desintoxicação, mas também influi na concentração sanguínea a quantidade e a velocidade de sua síntese hepática.

A albumina é a proteína mais abundante no plasma sanguíneo, correspondendo aproximadamente a 50% das proteínas circulantes. Outras destas proteínas globulares são as globulinas. Esses nomes são derivados das antigas técnicas de separação das proteínas. Aquelas proteínas solúveis que se mantinham solúveis em água pura foram denominadas albuminas e aquelas que requeriam soluções com sal para manter a sua solubilidade foram chamadas de globulinas. Posteriormente, com a utilização da eletroforese foi comprovado que no sangue existe somente um grande grupo de albuminas e muitos grupos de globulinas, que são classificadas como alfa, beta e gama-globulinas. A albumina 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 para sintetizá-la.

A hemoglobina é um pigmento transportador de oxigênio, constituída por uma proteína, a globina e uma protoporfirina heme, grupo que contém quatro anéis pirrólicos e ferro. Os valores de referência desses metabólitos sanguíneos proteicos são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Valores de referência de constituintes sanguíneos proteicos para bovinos, ovinos e caprinos

<b>Componente</b>	<b>Unidades</b>	<b>Bovinos</b>	<b>Ovinos</b>	<b>Caprinos</b>
Hemoglobina	g/dL	9,8 – 13,0	8,9 – 13,1	8,6 – 14,2
Albuminas	g/L	29 – 41	26 – 42	25 – 41
Globulinas	g/L	28 – 52	31 – 51	20 – 48
Proteínas totais	g/L	66 – 90	68 – 88	60 – 84
Ureia	mmol/L	2,6 – 7,0	4,0 – 10,0	2,0 – 8,0

### **Fatores que afetam a concentração dos indicadores proteicos**

Existem diversos fatores ou situações nas quais as concentrações dos metabólitos aumentam ou diminuem no sangue. Estas variações são estudadas nos perfis metabólicos, tratando de identificar deficiências ou excessos de alguns nutrientes ou, também, de diagnosticar alterações bioquímicas que diminuem a produção, a fertilidade ou são responsáveis por doenças e mortes de animais.

A alimentação tem influência na concentração sanguínea dos indicadores proteicos do perfil metabólico. Quanto maior for a ingestão de proteínas na ração, maior é a concentração de ureia sanguínea e quando a ingestão de proteínas é insuficiente, a concentração de ureia diminui. Também tem sido observado que quando existem deficiências de proteínas na ração, também diminuem as concentrações sanguíneas da albumina, a hemoglobina (Hb) e o hematócrito. Todavia, o efeito sobre estes últimos parâmetros é de menor magnitude que o efeito sobre a ureia e se apresenta mais tardiamente. No gado de corte, tem sido observada diminuição nas concentrações sanguíneas de albumina, hemoglobina e hematócrito, especialmente durante o período de crescimento, quando o gado é mantido em pastagens de baixa concentração de proteínas, por um período de aproximadamente 4 meses. Em ovinos, uma diminuição no aporte de proteínas na ração tem produzido uma diminuição nas concentrações de albumina, mas não de globulinas. O efeito da ingestão de proteínas sobre as concentrações de globulinas tem sido contraditório. Alguns autores têm observado uma correlação positiva e outros não.

A energia da ração tem efeito sobre os indicadores do metabolismo proteico, situação que tem sido bastante estudada. As mudanças na concentração sanguínea de ureia estão correlacionadas com o conteúdo de amônia ruminal e a utilização da amônia ruminal depende da atividade metabólica dos micro-organismos ruminais. Estes transformam o N da amônia em proteína bacteriana, para o qual requerem de energia, a qual deve ser proporcionada no alimento em quantidade adequada. Por isto, se a ração estiver deficiente em energia, as concentrações de amônia aumentam no rúmen e a da ureia no sangue. Quando o aporte de energia na ração é deficiente tem sido observado, somente no final do período de lactação, uma diminuição nas concentrações de albumina e hemoglobina.

A água é um nutriente que nem sempre é reconhecido em sua importância para os rebanhos. A deficiência de água está correlacionada com uma maior concentração de ureia sanguínea, devido a hemoconcentração que isto produz. Nessas circunstâncias, para poder interpretar adequadamente o perfil metabólico, é necessário medir o hematócrito, que pode identificar o grau da hemoconcentração e assinalar uma deficiência no aporte de água, responsável pela maior concentração de ureia.

Eventos como o parto e a lactação têm efeito sobre a concentração da maioria dos metabólitos utilizados no perfil metabólico. Entretanto, a maioria dos animais recupera suas concentrações rapidamente, de forma que não interfere no perfil metabólico, uma

vez que a amostragem é realizada em época mais afastada do parto. Todavia, alguns autores têm observado uma diminuição das concentrações de proteínas totais, globulinas e Hb antes do parto. No início da lactação, tem sido observado um rápido aumento das globulinas, bem como diminuição das concentrações de ureia e de albumina. A albumina posteriormente aumenta paulatinamente sempre que o aporte de proteínas na ração seja adequado. Naqueles rebanhos em que a concentração de albumina está dentro do intervalo de referência por volta das 10 semanas pós-parto, observa-se uma maior produção de leite no período de lactação e melhor fertilidade do que nos rebanhos em que esta concentração se mantém diminuída. Quando a ração é deficiente em proteínas, diminuição de albumina pode ser observada até por 2-3 meses durante o pós-parto sendo acompanhada de uma diminuição da concentração de Hb e também de valores baixos do hematócrito até 4-5 meses pós-parto. A diminuição de albumina não é determinada somente pela diminuição das proteínas na ração. Alguns autores sustentam que a demanda de aminoácidos para a síntese de proteína no leite reduz a síntese de outras proteínas e por isto as concentrações de albumina e Hb diminuem na medida em que a lactação avança. Outros autores afirmam que a diminuição da concentração de albumina é produzida pela redução da capacidade de síntese no fígado, devido ao acúmulo de gorduras que este órgão sofre no início da lactação.

A época do ano tem um efeito sobre a concentração dos indicadores do metabolismo proteico. Entretanto, é muito difícil poder separar o efeito das estações do ano com o efeito da alimentação, uma vez que as estações do ano geralmente influem sobre as características do alimento e o alimento, por sua vez, influi sobre os indicadores do metabolismo proteico.

As doenças infecciosas podem causar aumento das concentrações sanguíneas de globulinas e diminuição da concentração de albumina, a qual é uma proteína de fase aguda negativa. O efeito das doenças bacterianas, virais, protozoárias e helmínticas tem sido estudado, concluindo-se que todas elas têm um efeito similar, porém as doenças virais são as que provocam menor efeito.

## **Conclusões**

A concentração sanguínea de ureia é um indicador sensível e rápido da ingestão de proteína cru digerível. Um aumento na concentração de ureia pode indicar um excesso de

proteína na ração. Porém, esse aumento também pode ser produzido por um déficit de energia, uma deficiência de água nos rebanhos ou ainda por alterações da saúde dos animais.

A albumina, a hemoglobina e o hematócrito são indicadores úteis e sensíveis, somente quando ocorre um período prolongado de deficiência de proteínas na ração. A sua concentração também pode ser influenciada por problemas da saúde de indivíduos ou do rebanho.

Os indicadores proteicos não são modificados somente por desbalanços nutricionais proteicos. Por isso, a interpretação de suas concentrações no perfil metabólico deve considerar, além da alimentação, aspectos de manejo, saúde e estado fisiológico. Quando os indicadores proteicos no perfil metabólico se encontram fora do intervalo de referência é uma manifestação clara de que o rebanho deve ser estudado detalhadamente, para fazer as correções da alimentação, do manejo ou da saúde do rebanho, evitando assim que diminua a produção, a fertilidade e a rentabilidade da empresa pecuária.

## Referências

- Contreras, P. A., Wittwer, F. & Stehr, W. (1991). Composición sanguínea, peso y producción de leche durante los primeros tres meses de lactancia en vacas Friesian de tres genotipos. *Arch. Med. Vet.*, 23, 85-91.
- Contreras, P. A., Valenzuela, L., Wittwer, F. & Böhmwald, H. (1996). Desbalances metabólicos nutricionales más frecuentes en rebaños de pequeños productores de leche. Valdivia-Chile. *Arch. Med. Vet.*, 28, 39-50.
- Contreras, P. A. (1998). Síndrome de movilización grasa en vacas lecheras al inicio de la lactancia y sus efectos en la salud y producción de los rebaños. *Arch. Med. Vet.*, 30, 17-27.
- Manston, R., Russell, A. M., Dew, S. M. & Payne, J. M. (1975). The influence of dietary protein upon blood composition in dairy cows. *Vet. Rec.*, 96, 497-502.
- Payne, J. M. (1973). The Compton metabolic profile test. In Payne, J. M., Hibbit, K. G. & Sanson, B. F. *Production diseases in farm animals*. (pp. 236-240). London, UK: Bailliere Tindall.
- Rowlands, G.J. & Pocock, R.M. (1976). Statistical basis of the Compton metabolic profiles test. *Vet. Rec.*, 98, 333-338.
- Rowlands, G. J. (1977). Changes in serum albumin in dairy cows at calving and their possible significance in relation to milk yield and fertility during lactation. In Lister, D. (ed.). *Blood profiles in animal production*. British Society of Animal Production.

- Rowlans, G. J., Manston, R., Pocock, R. & Dew, S. (1975). Relationships between stage of lactation and pregnancy and blood composition in a herd of dairy cows and the influences of seasonal changes. *J. Dairy. Sci.*, 42, 349-362.
- Thompson, J. K., Thompson, D. C. & Warren, R.W. (1978). *Multiple blood analysis of dairy cows as management aid*. North Scotland College of Agriculture.
- Weston, R. H. & Hogan, J. P. (1968). Rumen ammonia in relation to characteristics of the diet and parameters of nitrogen metabolism. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.* 7, 359-363.
- Wittwer, F. & Contreras, P. A. (1980). Empleo de los perfiles metabólicos en rebaños del sur de Chile. *Arch. Med. Vet.*, 12, 178-188.
- Wittwer, F., Gallardo, P., Reyes, J. & Opitz, H. (1999). Bulk milk urea concentrations and their relationships with cow fertility in grazing dairy herds in southern Chile. *Prev. Vet. Med.*, 38, 159-166.
- Wittwer, F., Böhmwald, H., Contreras, P. A. & Filosa, J. (1987). Análisis de los resultados de los perfiles metabólicos en rebaños lecheros en Chile. *Arch. Med. Vet.* 19, 35-45.

## **9. Uso do perfil metabólico para determinar o status nutricional em gado de corte**

*Félix H. D. González*

*Universidade Federal do Rio Grande do Sul*

A composição bioquímica do sangue reflete de maneira confiável o equilíbrio entre o ingresso, o egresso e a metabolização dos nutrientes nos tecidos animais. Este equilíbrio é chamado de homeostase e, no processo, estão envolvidos complexos mecanismos metabólico-hormonais. A quebra da homeostase leva a diminuição do desempenho zootécnico e, dependendo do grau de desequilíbrio, a doenças da produção. A interpretação dos componentes químicos do sangue, o perfil metabólico, pode, portanto, ser útil para diagnosticar desequilíbrios provenientes de falhas na capacidade do animal em manter a homeostase. Bide (1978) publicou uma revisão de literatura sobre o uso do perfil metabólico em gado de corte. A maior parte das falhas de adaptação homeostática são consequência de erros na alimentação, que podem ser detectadas com a interpretação adequada do perfil metabólico. O objetivo do presente trabalho é fazer uma revisão dos componentes do perfil metabólico que podem ser utilizados na avaliação da adaptação metabólica a diversas condições nutricionais em bovinos de corte.

### **Monitoramento do status energético**

Em condições de campo é comum que os animais estejam alimentados abaixo de seus requerimentos nutricionais, principalmente durante o inverno. Economicamente, é de se considerar que esta seja uma situação prevista, uma vez que os ganhos de peso que são calculados durante o verão devem compensar as perdas que ocorrem no inverno. Entretanto, do ponto de vista da produção é útil conhecer uma aproximação do grau de déficit energético no animal. Uma metodologia útil para determinar o balanço energético em bovinos de corte é mediante o perfil metabólico, isto é, a determinação de certos metabólitos sanguíneos. A determinação do balanço energético, isto é, a diferença entre consumo e requerimentos, não é fácil de estabelecer. As mudanças de peso ou de condição corporal refletem se a dieta foi ou não adequada em períodos de tempo prolongados. Todavia, deficiências energéticas muito severas podem ser medidas através do perfil



metabólico no momento em que ocorrem, para evitar que a restrição alimentar possa ocasionar danos irreversíveis no animal e, portanto, ao processo produtivo.

Entre os metabólitos sanguíneos mais usados para avaliar o status energético estão a glicose, o beta-hidroxibutirato (BHB) e os ácidos graxos não esterificados ou livres (AGL). A interpretação do perfil metabólico é, contudo, a parte mais crítica no processo de avaliação do balanço energético. Os AGL e o BHB estão relacionados com a taxa de mobilização de reservas lipídicas em momentos de déficit energético e são os indicadores mais usados para aferir esse balanço. O nível de glicose plasmática é o indicador menos expressivo do perfil para avaliar o status energético, devido à insensibilidade da glicemia a mudanças nutricionais e à sua sensibilidade ao estresse. A glicemia, todavia, pode ser de utilidade em condições de déficit energético severo e em animais que não estão em gestação e nem lactação (Figura 1).

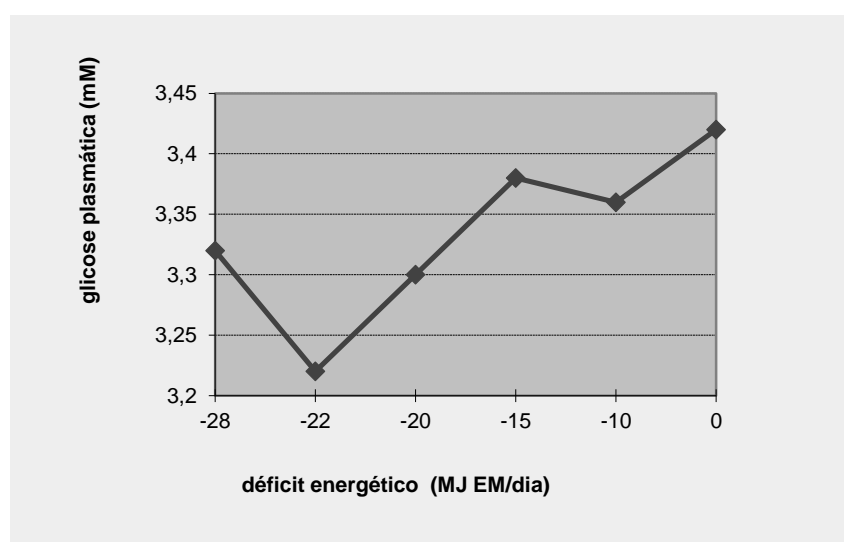


Figura 1. Relação da concentração plasmática de glicose com o déficit energético em vacas de corte não-lactantes e não-gestantes (Russel & Wright, 1983)

Para autores como Payne & Payne (1987), a glicose continua sendo um componente de escolha no perfil metabólico de gado de corte, uma vez que, sob condições de campo, pode ser observada hipoglicemia quando ocorre um balanço de energia severamente negativo. Em gado de corte, Downie & Gelman (1976) observaram relações da glicose sanguínea com o peso corporal e a fertilidade. Fornecendo três níveis de consumo energético eles encontraram que quando aumentava a glicemia melhorava a fertilidade e

que níveis baixos de glicose levavam a infertilidade. Os mesmos resultados não foram confirmados em ovelhas (Bouchat et al., 1980).

Os níveis plasmáticos de BHB têm um valor limitado como indicador do déficit energético, sendo mais úteis em circunstâncias em que a demanda de glicose no organismo é crítica, como nos casos de início da lactação e final de gestação. O BHB e os demais corpos cetônicos (acetoacetato e acetona), mostram aumentos relativamente pequenos em balanço negativo moderado, mas aumentam consideravelmente quando o balanço negativo se torna severo. A Figura 2 mostra a relação entre níveis plasmáticos de BHB com o déficit energético em vacas de corte 12 semanas antes do parto. Nessas circunstâncias, a relação entre os dois parâmetros é bastante estreita, não acontecendo dessa forma em vacas não-lactantes não-gestantes (Russel & Wright, 1983).

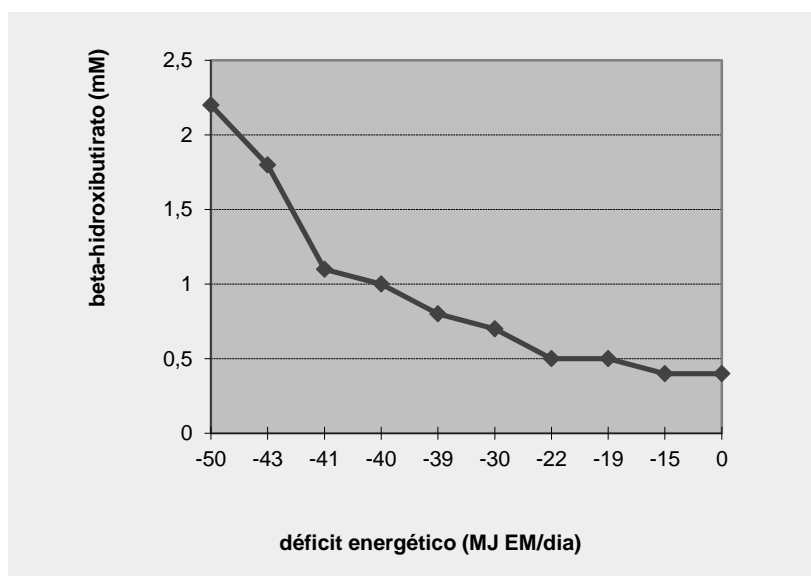


Figura 2. Relação da concentração plasmática de beta-hidroxiacetato com o déficit energético em vacas de corte no final da gestação (Russel & Wright, 1983).

Os AGL constituem o metabólito mais significativo para estimar o status energético em gado de corte, sob qualquer circunstância fisiológica ou de manejo, respondendo rapidamente a mudanças no consumo de alimento (Figura 3). Os AGL são bastante sensíveis a graus moderados de déficit energético, tendo, entretanto, menos utilidade em situações prolongadas de balanço energético negativo, onde o BHB tem mais utilidade. Os AGL também são suscetíveis de aumentar por efeito das catecolaminas liberadas no estresse. Dessa forma, seu uso é limitado em condições de campo onde existem animais

pouco acostumados com manejo frequente e procedimentos de coleta de sangue. O BHB é menos afetado por esses fatores tornando-se um indicador mais confiável nessas circunstâncias. Outro problema dos AGL é quanto aos custos de sua dosagem, uma vez que a técnica mais usada, a enzimática por espectrofotometria, ainda tem custo elevado, o que limita seu uso rotineiro.

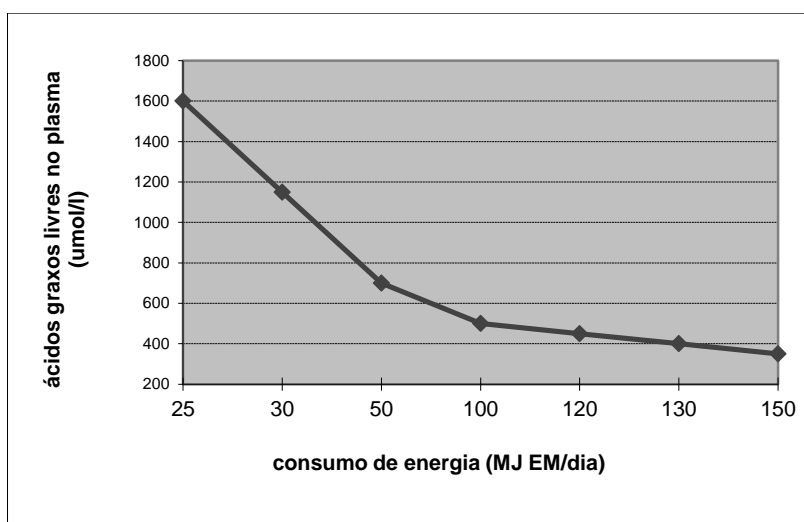


Figura 3. Relação da concentração plasmática de ácidos graxos livres com o consumo de energia em vacas de corte não-lactantes e não-gestantes (Russel & Wright, 1983).

### Monitoramento do status proteico

A avaliação do status proteico no gado de corte pode ser abordada mediante a determinação da concentração de proteína total, albumina, relação albumina/globulinas, relação de aminoácidos não essenciais/essenciais, ureia e relação ureia/creatinina (Saubertlich, 1999; Payne & Payne, 1987). A diminuição das proteínas totais no plasma está relacionada com deficiência na alimentação, quando descartadas causas patológicas, tais como falhas hepáticas, transtornos renais e intestinais, parasitismos e hemorragias. Estima-se que dietas com menos de 10% de proteína causam diminuição dos níveis proteicos no sangue (Kaneko et al., 1997). A albumina, principal proteína plasmática sintetizada no fígado, representa em torno de 50% do total de proteínas séricas. Ela contribui com 80% da osmolaridade do plasma sanguíneo, constituindo também uma importante reserva proteica, bem como um transportador de ácidos graxos livres, aminoácidos, metais e bilirrubina. A concentração de albumina pode ser afetada pelo funcionamento hepático, a disponibilidade de aminoácidos e perdas durante doenças,

principalmente em parasitismos gastrointestinais (Rowlands, 1980). A albumina é considerada como um indicador mais sensível para avaliar o status nutricional proteico do que as proteínas totais. Valores persistentemente baixos de albumina sugerem inadequado consumo de proteínas. Em casos de subnutrição severa, a albuminemia pode cair a níveis menores de 20 g/L (Sauberlich, 1999). Bovinos com hipoalbuminemia falham em expressar todo seu potencial produtivo. Rowlands & Manston (1983) mostraram que vacas que requeriam quatro ou mais serviços por concepção, possuíam baixas concentrações de albumina. Gregory & Siqueira (1983) relataram, em gado de corte no Rio Grande do Sul, a relação entre fertilidade e albuminemia observando que vacas com menos de 30 g/L de albumina sérica na época da monta, tiveram menores taxas de gestação. A albuminemia pode variar ao longo do ano em função das variações climáticas e seu efeito sobre as pastagens. No verão, podem ser encontrados altos níveis de albumina sérica, possivelmente devido a pastagens de melhor qualidade (Wittwer et al., 1987).

A concentração de ureia sanguínea tem sido empregada nos perfis metabólicos como um indicador do metabolismo proteico. A ureia é sintetizada no fígado em quantidades proporcionais à concentração de amônia produzida no rúmen e sua concentração sanguínea está diretamente relacionada com os níveis proteicos da ração e da relação energia/proteína da dieta (Wittwer et al., 1993). O equilíbrio energia/proteína na dieta de ruminantes é fundamental para o bom aproveitamento da ureia. Alterações na dieta, sazonais ou mesmo diárias, influenciam nos níveis de ureia no sangue e o seu bom aproveitamento pelo animal. Gonzalez et al. (2000) relataram as variações mensais de ureia e albumina em novilhas de corte em pastagens nativas do Rio Grande do Sul (Figura 4). Neste trabalho foi considerado que janeiro e junho seriam os meses em que ocorre maior deficiência de substratos proteicos na dieta, sendo maior a falta em junho, como demonstrado pela queda simultânea de albumina e ureia sanguíneas neste mês. Haveria uma moderada deficiência de proteína nos meses de março e julho, que se reflete em diminuição da ureia sanguínea em alguns animais, sem, porém, atingir a albuminemia. A ureia sanguínea demonstra o estado proteico do animal em curto prazo, enquanto que a albumina o demonstra em longo prazo. Dietas que contêm uma maior quantidade de proteínas fermentáveis estão associadas com concentrações maiores de amônia no rúmen do que aquelas com proteínas de degradação mais lenta. Estes animais apresentam teores elevados de ureia no sangue.

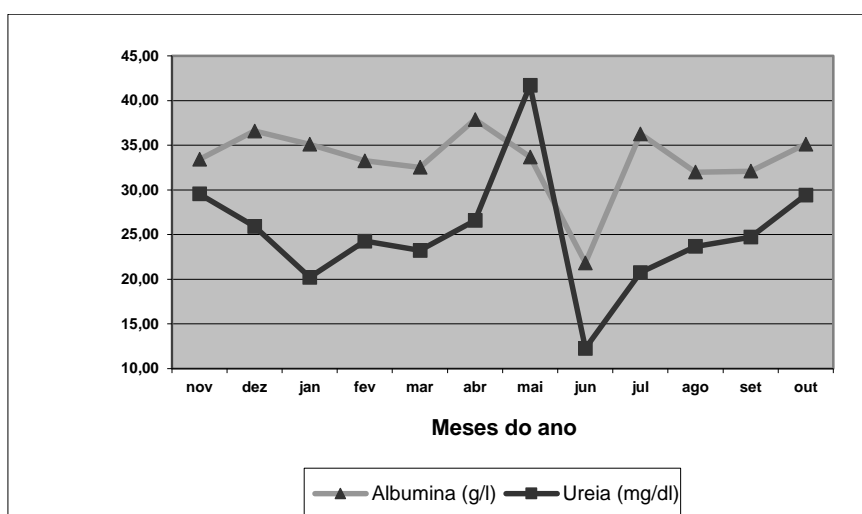


Figura 4. Variações plasmáticas de albumina e ureia em bovinos de corte no Rio Grande do Sul durante um ano (González et al., 2000).

### Monitoramento do status mineral

Entre as deficiências minerais mais comuns na nutrição do gado de corte estão, na ordem, as de sódio, fósforo e enxofre, no que se refere a macrominerais, e as de cobre, zinco, cobalto, selênio e iodo, entre os microminerais. Na Tabela 1 constam os principais indicadores do status nutricional em gado de corte com os valores limites considerados marginais de deficiência.

A deficiência nutricional de fósforo pode ser avaliada, de forma confiável, pela dosagem de fósforo sanguíneo, que pode atingir valores menores que 3 mg/dL (0,97 mmol/L) quando se apresentam sinais clínicos extremos, como a depravação do gosto (alotrofagia). Graus de hipofosfatemia menos acentuada são compatíveis com sinais menos específicos, como queda na condição corporal e no ganho de peso, baixa fertilidade, claudicações e depressão do apetite. O valor de referência da fosfatemia é de 4,3 a 7,7 mg/dL (1,4-2,5 mmol/l). Nas amostras de sangue para dosagem de fósforo é importante, principalmente em coleta com anticoagulante, evitar a hemólise e fazer uma rápida separação da fase líquida (plasma) da parte celular, uma vez que, com o tempo ocorre aumento da fosfatemia devido à saída de fósforo intracelular.

Tabela 1. Indicadores metabólicos do status nutricional em gado de corte

<b>Status</b>	<b>Valores limite</b>
<b>Energético</b>	
Glicose	< 40 mg/dL (2,2 mmol/L)
Beta-hidroxiacetato	> 10 mg/dL (0,96 mmol/L)
Ácidos graxos livres	> 100 mg/dL (800 µmol/L)
<b>Proteico</b>	
Albumina	< 30 g/L
Ureia	< 15 mg/dL (2,5 mmol/L)
<b>Mineral</b>	
Fósforo	< 3 mg/dL (0,97 mmol/L)
Magnésio	< 1,5 mg/dL (0,6 mmol/L)
Sódio	< 133 meq/L
Relação Na/K saliva	< 10
Cobre	< 50 µg/dL (7,8 µmol/L)
Glutation peroxidase (selênio)	< 60 U/g Hb
Tiroxina (iodo)	< 4,2 µg/dL (54 nmol/L)
Vitamina B <sub>12</sub> (cobalto)	< 96 µg/mL
Zinco	< 70 µg/dL (10,7 µmol/L)
Metilmalônico (cobalto)	Sem dados conhecidos
Metalotioneína (zinco)	Sem dados conhecidos

Problemas de deficiência de cálcio e magnésio têm maior importância em gado de leite que de corte. Hipomagnesemia em gado de corte só tem sido relatada em casos de fêmeas lactantes.

A deficiência de sódio (Na) é frequente, enquanto que a de potássio é rara, ao ponto de a dosagem de K poder ser excluída do perfil metabólico. O status do Na não é bem avaliado através dos seus valores sanguíneos devido aos mecanismos homeostáticos deste mineral. A hiponatremia só acontece em casos de deficiência contínua e acentuada. Um método para detectar a deficiência de Na é mediante a determinação da relação Na/K na saliva. Nesse caso, a excreção de Na via salivar diminui drasticamente e a de K aumenta, de forma que a relação Na/K na saliva diminui. Em animais saudáveis, a concentração de Na na saliva é de 145 meq/L e a de K de 7 meq/L. A relação Na/K é, portanto, de 20. Em estados de deficiência de Na, esta relação pode ficar em 10. A medição de Na na urina também fornece resultados práticos, sendo que um teor menor de 1 meq/L é indicador claro de deficiência.

A deficiência de cobre pode ser observada pela concentração do mineral no plasma. Valores menores de 50 µg/dL são considerados como ponto crítico para detectar uma

situação marginal (Payne & Payne, 1987), que pode transformar-se em deficiência quando aumentam os níveis de molibdênio, ferro ou enxofre (este último ligado a proteínas), minerais que interferem com a absorção intestinal de cobre. Indicadores menos específicos são o hematócrito e a hemoglobina, que diminuem devido à anemia decorrente da deficiência de cobre.

Para avaliar o balanço do selênio, pode ser medido diretamente este elemento no plasma mediante técnicas de ativação neutrônica ou de espectrometria de absorção atômica. Porém, as dificuldades e custos para esta dosagem, têm estimulado a utilização de um indicador indireto, qual seja, a atividade da enzima glutathione peroxidase (GPx) nos eritrócitos. Esta enzima, responsável por parte dos mecanismos antioxidantes das células, tem o selênio na sua estrutura e a sua atividade está altamente correlacionada com o teor de selênio no organismo. Valores de GPx menores de 60 U/g hemoglobina, são considerados deficientes quanto ao balanço do selênio. A deficiência de selênio pode causar, principalmente em bezerros de corte, a doença do músculo branco, uma distrofia muscular decorrente da oxidação dos lipídeos da membrana das células musculares. No Rio Grande do Sul já foram relatados casos desta doença (Barros et al., 1988).

A deficiência de iodo pode também ser monitorada mediante um indicador indireto, a tiroxina (T<sub>4</sub>), hormônio que contém este elemento em sua molécula. Uma deficiência de iodo vem sempre acompanhada de diminuição da secreção do hormônio tireoidiano. A tiroxina pode ser dosada pelo método de radioimunoanálise (RIA) ou por quimiluminescência. Valores de referência de T<sub>4</sub> em bovinos de corte variam entre 4,2 a 8,6 µg/dL (Kaneko et al., 1997). A deficiência de iodo é comum em rebanhos alimentados em pastagem, principalmente quando a suplementação com sal está limitada. Contudo, o melhor indicador de deficiência de iodo é a medição da iodúria. Considera-se que em ruminantes uma concentração de I urinário < 100 µg/L e no leite < 20 µg/L é sinal de insuficiente consumo de I (Herzig et al., 1999). Não existem dados sobre estas informações em bovinos no Brasil.

A deficiência de cobalto é mais difícil de avaliar devido a que não existe um indicador adequado e confiável e a falta de técnicas práticas para a sua dosagem. Em função dos efeitos da deficiência deste elemento, que comprometem a síntese de glicose a partir do propionato absorvido do rúmen e a hematopoiese, podem ser considerados como indicadores indiretos, porém inespecíficos, a medição de glicose e de hemoglobina. A hipoglicemia, observada nesses casos também pode levar a diversos graus de

cetonemia, sendo, portanto, a concentração de corpos cetônicos um indicador indireto da deficiência de cobalto. Alternativas menos práticas, porém, mais específicas, para avaliar a deficiência de cobalto são a dosagem de vitamina B<sub>12</sub> mediante RIA no plasma e a de ácido metilmalônico na urina. A vitamina B<sub>12</sub> contém cobalto na sua estrutura e faz parte da coenzima B<sub>12</sub>, que é necessária para a metabolização do ácido metilmalônico na gliconeogênese. Em animais com deficiência de cobalto, os níveis de vitamina B<sub>12</sub> estarão diminuídos (valores abaixo de 96 µg/mL) e os de ácido metilmalônico aumentados, tanto no sangue quanto na urina.

O balanço de zinco pode ser avaliado pela medição do mineral mediante espectrofotometria de absorção atômica ou então pela dosagem do metabólito metalotioneína, indicador confiável da quantidade das reservas de zinco no fígado. O nível marginal para detectar deficiência de zinco é de 70 µg/dL no plasma. Outro indicador indireto do balanço do zinco é a atividade da enzima fosfatase alcalina no plasma, a qual acompanha a depleção e repleção deste mineral no fígado.

## Referências

- Barros, C. S., Barros, S. S., Dos Santos, M. N. & Metzdorf, L. L. (1988). Miopatia nutricional em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.*, 8, 51-55.
- Bide, R. W. (1978). Metabolic profiles of beef cattle. *Canadian Vet. J.*, 19, 344-345.
- Bouchat, J. C., Doize, F. & Paquay, R. (1980). Effect of fasting on blood composition and nitrogen losses in the adult sheep depending on previous diet and body weight. *Reprod. Nutr. Dev.*, 20, 77-92.
- Campbell, A. G., Adams, F. W., Pendell, H. W. et al. (1974). Effects of elevated iron intake on the copper status of grazing cattle. *N.Z. J. Agric. Res.*, 17, 393-399.
- Downie, J. G. & Gelman, A. L. (1976). The relationship between changes in body weight, plasma glucose and fertility in beef cows. *Vet. Rec.*, 99, 210-212.
- Gregory, R. M. & Siqueira, A. J. S. (1983). Fertilidade em vacas de corte com diferentes níveis de albumina sérica e aleitamento permanente e interrompido. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, 71, 47-50.
- González, F. H. D., Conceição, T., Siqueira, A. J. S. & La Rosa, V. (2000). Variações sanguíneas de uréia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no Rio Grande do Sul. *A Hora Veterinária*, 20, 59-62.
- Herzig, I., Pisarikova, B., Kursá, J. & Riha J. (1999). Defined iodine intake and changes of its concentration in urine and milk of dairy cows. *Veterinarni Medicina*, 44, 35-40.
- Kaneko, J.J., Harvey, J.W. & Bruss, M.L. (1997). *Clinical biochemistry of domestic animals*. San Diego, USA: Academic Press.



- Kirchgessner, M., Weigand, E. & Roth, H. P. (1980). Zinc deficiency in animals and possible diagnosis. In *Metabolic disorders in farm animals*. Proc. 4<sup>th</sup> Intl. Conf. on Production Diseases in Farm Animals. München.
- Murphy, G. M. & Gartner, R. J. W. (1974). Sodium levels in the saliva and faeces of cattle on normal and sodium deficient diets. *Aust. Vet. J.*, 50, 280-281.
- Murphy, G. M. & Plasto, A. W. (1972). Sodium deficiency in a beef cattle herd. *Aust. Vet. J.*, 48, 129.
- Payne, J. M. & Payne, S. (1987). *The metabolic profile test*. Oxford, UK: Oxford University Press.
- Rowlands, G. J. (1980). A review of variations in the concentrations of metabolites in the blood of beef and dairy cattle associated with pathology, nutrition and disease, with particular reference to the interpretation of metabolic profiles. *World Rev. Nutr. Diet*, 35, 172-235.
- Rowlands, G. J. & Manston, R. (1983). Decline of serum albumin concentration at calving in dairy cows: its relationships with age and association with subsequent fertility. *Res. Vet. Sci.*, 34, 90-96.
- Russel, A. J. F. (1983). The use of blood metabolites in the determination of energy status in beef cows. *Anim. Prod.*, 37, 335-343.
- Salih, Y., McDowell, L. R., Hentges, J. F. & Wilcox, C. J. (1986). Effects of mineral supplementation of Brahman cows on blood minerals and metabolic profiles in Brahman calves. *Nutr. Rep. Intl.*, 34, 357-364.
- Sauberlich, H. E. (1999). *Laboratory tests for the assessment of nutritional status*. Boca Raton, USA: CRC Press.
- Wittwer, F., Böhmwald, H., Contreras, P. A. & Filoza, J. (1987). Análisis de los resultados de perfiles metabólicos en rebaños lecheros en Chile. *Arch. Med. Vet.*, 19, 35-45.
- Wittwer, F., Reyes, J.M., Opitz, H. et al. (1993). Determinación de úrea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. *Arch. Med. Vet.*, 25, 165-172.

## **10. Uso do perfil metabólico no diagnóstico de doenças metabólico-nutricionais em ruminantes**

*Félix H. D. González*

*Universidade Federal do Rio Grande do Sul*

O perfil metabólico em ruminantes pode ser usado não somente para monitorar a adaptação metabólica e diagnosticar desequilíbrios da homeostase de nutrientes, mas também para revelar as causas que estão por trás da manifestação de uma doença nutricional ou metabólica. Enquanto ferramenta laboratorial, o perfil metabólico será útil se considerado junto com o exame clínico e o histórico do rebanho como um todo ou dos animais individualmente. Além de subsidiar o diagnóstico, o perfil metabólico pode servir para monitorar a efetividade do tratamento e prognosticar o problema. O presente trabalho tem como objetivo revisar a forma como o perfil metabólico pode ajudar no diagnóstico e prognóstico de alguns transtornos metabólico-nutricionais em ruminantes.

### **1. Mortalidade pós-natal**

A mortalidade de animais jovens é um fator que limita a produtividade em ruminantes. Uma causa preponderante é a suscetibilidade a sofrer infecções devido ao baixo consumo de colostro no momento adequado, isto é, nas primeiras 48 horas de vida.

A hipoglobulinemia em animais neonatos que receberam pouco colostro pode ser detectada mediante o perfil metabólico, o que permite tomar providências para evitar complicações. O estado hipoproteinêmico da mãe ao final da gestação é uma das causas do baixo nível de imunoglobulinas no colostro, e isto também pode ser detectado pelo perfil metabólico da mãe antes do parto. Nos animais neonatos com problemas de baixas defesas observa-se, além da hipoglobulinemia, tendência a hipoglicemia, especialmente antes dos sinais clínicos aparecerem. A desidratação, que ocorre durante um quadro de diarreia, pode ser avaliada com o perfil metabólico. Assim, um hematócrito acima de 55% indica grave comprometimento da vida do animal, valores elevados de ureia (>100 mg/dL) são de mau prognóstico, e a hipercalemia e a hiperfosfatemia devidas à saída de K e P das células danificadas podem indicar a iminência de um colapso.

A deficiência de zinco (Zn) também causa diminuição da competência imunológica, aumentando a probabilidade de infecções, especialmente em animais jovens. Em

carneiros consumindo pastagens com menos de 100 ppm de Zn, observam-se níveis sanguíneos deste mineral abaixo do limite inferior (6  $\mu\text{moles/L}$ ) que pode causar predisposição a infecções e morte. Deficiências causadoras de doenças graves em animais jovens e que podem ser detectadas mediante o perfil metabólico incluem também deficiências de selênio/vitamina E, diagnosticada mediante o nível de atividade da enzima glutathione peroxidase (GPx) nos eritrócitos, e deficiências de fósforo, sódio e iodo.

## **2. Cetose**

A cetose ocorre em vacas e cabras leiteiras em função da enorme drenagem de glicose sanguínea para a glândula mamária com o objetivo de sintetizar lactose. O transtorno ocorre geralmente nas primeiras semanas da lactação, em animais que não conseguem adaptar seu metabolismo à nova situação fisiológica. Os eventos metabólicos mais importantes que ocorrem na cetose são manifestados no perfil metabólico por hipoglicemia e por cetonemia (elevação dos corpos cetônicos). Estes últimos encontram-se aumentados tanto no sangue quanto no leite e na urina. O nível de ácidos graxos livres e de colesterol também se eleva e o fígado pode sofrer alterações lipídicas. A severidade da síndrome é proporcional ao grau de hipoglicemia e de cetonemia.

A glicemia pode cair do normal de 50-70 mg/dL para 20-40 mg/dL e os corpos cetônicos do sangue podem aumentar do limite normal de 10 mg/dL para valores de até 100 mg/dL. Os corpos cetônicos na urina, presentes normalmente até 70 mg/dL, podem atingir níveis de até 1.300 mg/dL. No leite, os corpos cetônicos podem passar do normal de 3 mg/dL para 40 mg/dL. Uma informação importante para avaliar a evolução da doença é a atividade plasmática das enzimas hepato-específicas, tais como ornitina carbamil-transferase, sorbitol desidrogenase e glutamato desidrogenase ou de outras enzimas menos específicas, mas igualmente importantes, tais como aspartato transaminase (AST) e fosfatase alcalina (FA). Os níveis de albumina e de colesterol e, em menor grau, de glicose também podem indicar funcionamento do fígado, devido a sua diminuição quando a função hepática está comprometida.

Antes dos sinais clínicos da cetose aparecerem, pode ser detectado aumento no nível dos corpos cetônicos, entre eles o mais importante, o beta-hidroxiacetato (BHB). Os sinais clínicos podem ser observados quando o BHB ultrapassa 1,0 mmol/L. Outro corpo cetônico, o acetoacetato, também é considerado como bom indicador de cetose.

Concentrações de acetoacetato de até 0,35 mmol/L são consideradas normais, enquanto que níveis entre 0,36 e 1,05 mmol/L são compatíveis com cetose subclínica e acima de 1,05 mmol/L indicam doença clínica. A cetose clínica pode, em tese, ser previsível combinando os valores de corpos cetônicos e glicose. É possível também acompanhar a evolução da doença depois que ela se apresenta através dos níveis de corpos cetônicos no leite ou na urina. Considera-se que os níveis de corpos cetônicos no leite correspondem a 35-50% dos valores no sangue.

Níveis de glicose sanguínea menores que 35 mg/dL em vacas leiteiras com 2 a 6 semanas de lactação, constituem sinal de alarme. Níveis de BHB sanguíneos maiores de 10 mg/dL são indicativos de cetose subclínica. Também é útil e prático fazer testes para a detecção semi-quantitativa de corpos cetônicos na urina ou no leite, por meio de fitas reagentes ou pelo método de Rothera<sup>2</sup>, a partir da 2ª semana de gestação.

Em todos os tipos de cetose ocorre acidose metabólica, casos em que o bicarbonato do sangue pode cair para níveis menores que 10 mM (VR: 17-25 mM) e o pH para menos de 7,2 (VR: 7,4). Embora não sendo parte dos componentes do perfil metabólico, a condição corporal é um indicador muito usado para efeitos de prevenção, devido a sua praticidade. A recomendação é que a vaca leiteira deve chegar ao parto em condição corporal equivalente a um escore de 3,0 a 3,5 (na escala de 1 a 5). Isto implica na observação da condição corporal no início do período seco, para tomar nas providências necessárias com relação ao manejo alimentar até o parto.

### **3. Acidose láctica**

A acidose láctica fica caracterizada quando o nível de lactato sanguíneo excede a 5 mmol/L. Os valores de referência de lactato sanguíneo para as diferentes espécies, em geral, estão em torno de 1,2 mmol/L. A acidose láctica constitui uma forma relativamente comum de acidose metabólica que pode ser consequência da produção exagerada e/ou da subutilização de lactato. Nos ruminantes, é frequente a observação de acidose láctica quando uma dieta básica de forragem é subitamente mudada para uma alimentação com glicídeos solúveis facilmente fermentáveis (concentrados), sem que tenha sido feito um

---

<sup>2</sup> Reagente Rothera: nitroprussiato de sódio 1 g, sulfato de amônia 20 g, carbonato de sódio anidro 20 g. Misturar e moer até pulverizar. Colocar num tubo o pó reagente (ca.1 g), adicionar 2 mL de amostra e agitar. Cor púrpura intenso e imediato equivale a aproximadamente 50 mg/dL, cor suave em 1 min e até 3 min equivale a 30-50 mg/dL; cor suave depois de 3 min equivale a 10-30 mg/dL.

período prévio de adaptação. Os casos mais comuns de acidose láctica nos ruminantes são devidos a ingestão súbita, e sem período de adaptação, de grãos como o trigo, a cevada e o milho. Menos comumente pode ocorrer pela ingestão súbita de maçãs, uvas, pão ou subprodutos de padaria, melão, subprodutos de cervejaria e soluções concentradas de sacarose (usadas em apicultura). Dependendo do tipo de material e da quantidade consumida, bem como da adaptação do animal, a morbidade da doença pode chegar a 50%, enquanto que a mortalidade, em casos não tratados, pode chegar a 90%.

A produção excessiva de lactato ruminal (indigestão ácida) é provocada pela ação do *Streptococcus bovis*. Este microrganismo fermenta anaerobicamente, de maneira rápida, os carboidratos solúveis, levando ao acúmulo e absorção de lactato. A produção de lactato no rúmen supera a quantidade que pode ser absorvida. Como consequência, o pH ruminal cai para valores abaixo de 5,0 causando atonia do rúmen e rumenite química. A osmolaridade do rúmen aumenta, provocando o acúmulo de fluidos corporais neste, causando desidratação, hemoconcentração e até mesmo choque hipovolêmico, que pode ser fatal. Por outro lado, o pH sanguíneo e o bicarbonato diminuem, com consequente acidose metabólica, pois o ácido láctico é 10 vezes mais forte que os ácidos graxos voláteis. Em acidose severa, as reservas plasmáticas de bicarbonato são esgotadas, a pressão sanguínea diminui e o suprimento de oxigênio aos tecidos fica comprometido. Desta forma, o metabolismo é forçado a aumentar a taxa de glicólise anaeróbica, exacerbando a produção de lactato. A urina torna-se mais ácida, de forma que os valores normalmente alcalinos de pH urinário dos ruminantes caem para cerca de 5,0. As sequelas de uma acidose láctica nos ruminantes incluem rumenite, que pode ser complicada por uma micose secundária, geralmente fatal. O grau de desidratação é um parâmetro da gravidade do problema, sendo que os melhores indicadores para este evento são o hematócrito e a albumina. Os valores destes indicadores podem aumentar 60 ou 70% do valor de referência, dependendo da severidade da desidratação. Este mesmo parâmetro pode servir para monitorar a efetividade do tratamento. Uma forma prática adicional de acompanhar a evolução da doença é mediante a medição do pH urinário, indicador do estado de acidose.

#### **4. Febre do leite**

No caso da febre do leite dos bovinos, sendo uma doença de apresentação aguda, não existe teste sanguíneo que possa prever a ocorrência. Entretanto, mediante o perfil

metabólico podem ser detectados fatores predisponentes da doença e, sofrida a doença, pode ser avaliado o prognóstico. Entre os fatores predisponentes à febre do leite, os desequilíbrios minerais podem ser avaliados mediante o perfil metabólico, especificamente a deficiência de magnésio (Mg) e desequilíbrio da relação cálcio/fósforo (Ca/P). A deficiência de Mg é a mais importante causa predisponente para a febre do leite. Dietas deficientes em magnésio causam inibição da mobilização de Ca por efeito direto sobre o metabolismo dos ossos, interferindo com a absorção intestinal de Ca e estimulando a secreção de calcitonina.

A maioria das vezes, a hipomagnesemia não se apresenta clinicamente, mas de forma crônica subclínica atacando as vacas logo após o parto. A incidência de hipomagnesemia aumenta nas épocas em que o pasto é fertilizado com K, pois esse mineral inibe a disponibilidade de Mg no animal. Também, nas épocas de produção de pastagem ou forragem de má qualidade como no inverno, os níveis de Mg caem perigosamente. Mediante o perfil metabólico pode ser acompanhado o estado magnesêmico do rebanho, a fim de manter níveis de segurança de 0,85 mmol/L e suplementar quando for o caso.

O desequilíbrio da relação Ca/P se refere ao aumento dessa relação, seja por deficiência de P ou por excesso de Ca. Uma relação Ca:P maior que 3,8 pode provocar: (a) inibição da secreção de hormônio paratireoideano (PTH), o que causa falha na mobilização de Ca dos ossos e na absorção de Ca no intestino; e (b) aumento da secreção de calcitonina, hormônio que causa diminuição da concentração de Ca sanguíneo por estimular a o ingresso de Ca nas reservas ósseas. Assim, o efeito sobre o metabolismo de uma relação Ca/P alta é a diminuição da mobilização das reservas de Ca e o aumento da predisposição a sofrer febre do leite no momento em que a demanda de cálcio aumenta, como é o caso do início da lactação. Conhecendo o estado mineral, mediante o perfil metabólico, podem ser tomadas as providências do caso antes do parto.

O nível crítico de Ca sanguíneo é de 6,5 mg/dL. Considera-se que este nível é incompatível com a motilidade normal do trato gastrointestinal, o que pode exacerbar a hipocalcemia ou até causar outros problemas metabólicos. Quando o teor de Ca sanguíneo chega a ser menor de 4,5 mg/dL, os sinais clínicos da febre do leite aparecem. Em nível de campo, pode ser realizada o teste semi-quantitativo de cálcio utilizando EDTA (ácido

etileno-diaminotetracético)<sup>3</sup>.

Nas vacas acometidas por febre do leite, o perfil metabólico pode ajudar no prognóstico. Sabendo que o dano muscular é o principal responsável da falta de recuperação na febre do leite e o principal fator que causa a síndrome da vaca caída, podem ser determinados no plasma os níveis de atividade das enzimas musculares, principalmente a creatina quinase (CK) e a aspartato transaminase (AST). Altos níveis enzimáticos revelam extenso dano muscular com poucas probabilidades de recuperação. A proporção de recuperação das vacas com febre do leite mediante o tratamento clássico de uma única injeção intravenosa de borogluconato de cálcio é da ordem de 65%. A recuperação das demais vai depender da resposta metabólica e, principalmente, do dano muscular.

Outros fatores predisponentes à febre do leite, como estase alimentar, alcalose, raça, peso e produção de leite, não podem ser avaliados mediante o perfil metabólico. Dietas consideradas alcalinas, isto é, com excesso de cátions ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ) predis põem à hipocalcemia. Dietas ricas em fósforo (> 80 g/dia) também têm o mesmo efeito. Isto acontece porque a alta concentração de P sanguíneo inibe a  $1\alpha$ -hidroxilase, diminuindo a produção de 1,25-dihidroxi-colecalciferol (vitamina  $\text{D}_3$  ativa) e, portanto, diminuindo a absorção de Ca intestinal.

Em ovinos, a hipocalcemia pode acontecer também no início da lactação ou nas últimas semanas de gestação. Nesses casos, ocorre diminuição do Ca sanguíneo para menos de 6 mg/dL e aumentos da atividade sérica das enzimas aspartato transaminase, creatina quinase e lactato desidrogenase. A hipocalcemia do periparto também pode ocorrer em cabras leiteiras, mas diferentemente das vacas, nas quais o problema se apresenta nos primeiros dias após o parto, nas cabras pode ocorrer desde os primeiros dias até várias semanas após o parto. A calcemia observada nas cabras afetadas é de menos de 4 mg/dL.

---

<sup>3</sup> O teste de EDTA utiliza 0,8 mL de uma solução de EDTA 1 em 1.000, quantidade suficiente para quelar o Ca presente em 2 mL de sangue com concentração inferior a 6 mg/dL. O sangue é misturado e deixado 30 min a temperatura ambiente. Si não ocorre coagulação, considera-se que o sangue tem menos de 6 mg/dL.

## **5. Síndrome de mobilização lipídica**

Esta doença é característica de vacas leiteiras de alta produção nas primeiras semanas após o parto, em função de um balanço energético altamente negativo, que causa maciça mobilização das reservas lipídicas do organismo. Os ácidos graxos livres colocados na circulação pela resposta a hormônios (glucagon, somatotropina, prolactina) entram no fígado para serem reesterificados a lipoproteínas. Quando existem problemas no fígado, que comprometem a síntese da apolipoproteína correspondente, ocorre deposição de lipídeos nos hepatócitos. A infiltração gordurosa pode ultrapassar os 12% aceitáveis. A partir de 25% de infiltração lipídica são observados sinais clínicos da doença, correspondentes a uma hepatopatia. Destarte, no perfil metabólico são observados aumentos de ácidos graxos livres, bilirrubina e enzimas hepáticas (AST). Também, por conta do balanço negativo de energia, podem ser encontrados aumentos de corpos cetônicos. O comprometimento da função hepática causa diminuição sanguínea de colesterol, albumina e glicose. Pode estar também diminuído o magnésio, em função de sua fixação no tecido adiposo para permitir a ação das enzimas lipolíticas. A avaliação do problema pode incluir outros indicadores auxiliares. O conteúdo de proteína e ureia no leite revela a adequação do aporte energético-proteico da dieta. Consideram-se valores de referência no leite 30 g/L de proteína e 4,3 a 5,7 mmol/L de ureia (Contreras, 1998). Os corpos cetônicos podem ser também detectados no leite, mediante tiras reagentes ou o teste de Rothera<sup>2</sup>.

## **6. Toxemia da gestação**

Esta doença metabólica é característica de ovelhas e cabras com dois ou mais fetos no final da gestação. Similarmente à cetose das vacas, ocorre hipoglicemia e cetonemia elevada com cetonúria. A hipoglicemia aparece no início da apresentação dos sinais clínicos, caindo para menos de 25 mg/dL, sendo que o teor normal da glicemia nos ovinos é de 40 a 60 mg/dL. A hipoglicemia, junto com o acetoacetato, são responsáveis pelos sintomas neurológicos da doença. O teor de beta-hidroxibutirato, corpo cetônico mais importante, pode chegar a 100 mg/dL, quando o normal é de até 10 mg/dL. Existe uma correlação entre a severidade dos sinais clínicos com a hipercetonemia e, em menor grau, com a hipoglicemia. A cetonúria pode atingir 300 mg/dL, podendo ser determinada semi-quantitativamente mediante tiras reagentes ou pelo teste de Rothera<sup>2</sup>.



O nível de cortisol plasmático na toxemia da gestação pode aumentar acima de 10 ng/mL, sendo usado como indicador da doença, junto com a hipoglicemia, a cetonemia e a cetonúria. As ovelhas são mais suscetíveis aos efeitos da cetose, sendo observado, além dos sinais nervosos, uma severa acidose metabólica, falha renal aguda, uremia e desidratação.

O animal caído entra em anorexia, exacerbando a hipoglicemia e a cetonemia. Também não bebe água, levando a desidratação. Como consequência da acidose metabólica, o nível de bicarbonato pode cair a menos de 15 mM (VR: 25 mM) e a urina aparecer com pH menor de 7,0 (VR: 7,5-8,0). Na fase mais avançada da toxemia pode ser observada hiperglicemia por estresse, principalmente quando já ocorreu a morte dos fetos. Também pode ser observada azotemia (aumentos de ureia e creatinina), como consequência da falha renal. Nesses casos, a mortalidade chega a 90%.

É comum que um evento de toxemia cause lesão hepática em função da infiltração gordurosa do fígado, o que pode ser indicado pelo aumento da atividade plasmática de enzimas hepáticas, bem como aumento de bilirrubina (total e direta). Em ocasiões são observadas também hipocalcemia moderada, aumento do hematócrito (desidratação), neutropenia e eosinofilia.

## **7. Tetania hipomagnesêmica**

A hipomagnesemia ou tetania das pastagens caracteriza-se por valores baixos de Mg no plasma. O teor de referência de Mg, que é de 2 a 3 mg/dL, decai para menos de 1,8 mg/dL na situação subclínica. Os primeiros sinais de irritabilidade aparecem quando o nível cai para 0,7 mg/dL e a tetania quando atinge menos de 0,5 mg/dL. Este transtorno ocorre tanto em gado de leite, como de corte, principalmente quando a alimentação é a base de pastagens. As épocas mais frequentes de ocorrências são em períodos de crescimento ativo da pastagem (primavera) ou quando diminuem os recursos forrageiros. O primeiro caso pela interferência de N e K com a absorção de Mg e o segundo por carência de Mg. Sempre a apresentação do problema está ligada a eventos de estresse. Em casos de morte com suspeita de hipomagnesemia, convém utilizar outros fluidos que não o sangue. Por exemplo, humor vítreo, no qual pode detectar-se o problema quando a concentração de Mg é menor de 1,5 mg/dL.

## **8. Distrofia muscular nutricional**

Esta doença metabólica é causada por deficiência de selênio e/ou vitamina E, importantes componentes dos mecanismos antioxidantes do organismo, atacando preferencialmente ruminantes jovens. Em casos agudos de apresentação da doença não dá tempo de tomar qualquer providência, mas a ocorrência pode ser crônica ou, na maioria dos casos, subclínica, manifestando sintomatologia em circunstâncias estressantes. Em casos de suspeita de deficiência de selênio, é útil fazer determinação da atividade da enzima glutathione peroxidase (GPx) em eritrócitos, que tem relação direta com o balanço desse mineral. Neste caso, a amostra a ser utilizada é sangue completo devendo ser determinada a concentração de hemoglobina (Hb) para expressar o resultado em unidades internacionais (UI) por g de Hb. Teores menores de 60 U/g Hb de GPx são compatíveis com deficiência de selênio (VR: > 130 U/g Hb). O dano muscular causado pelas lesões derivadas da peroxidação das membranas das fibras musculares, pode ser avaliado mediante a atividade plasmática da enzima creatina quinase. Assim, valores de esta enzima maiores de 1.000 U/L são indicadores de severa lesão muscular (VR até 200 U/L).

## **9. Ataxia enzoótica dos cordeiros**

Esta doença está caracterizada por deficiência de cobre, especialmente em cordeiros de até 3 meses de idade. A deficiência pode ser primária por alimentação deficiente neste mineral ou secundária, decorrente de excesso de consumo dos minerais molibdênio ou enxofre, que interferem na absorção intestinal do cobre. A quantidade de enxofre está relacionada com a sua presença nas proteínas. Os níveis plasmáticos de cobre, na ataxia enzoótica podem cair a menos de 20 µg/dL (VR: 70-120 µg/dL). Dados adicionais, após necropsia, da concentração mineral em tecidos e na pastagem contribuem para o diagnóstico da doença. O teor de cobre hepático pode cair para menos de 25 ppm (matéria seca), sendo que o normal é de mais de 120 ppm. Também, pastagens com menos de 5 ppm de cobre ou mais 1 ppm de molibdênio ou 0,2% de enxofre (matéria seca) são indicativos de deficiência de cobre.

## **10. Urolitíase**

Outros transtornos minerais que podem ser detectados mediante o perfil metabólico incluem a urolitíase e doenças ósseas. A formação de cálculos na urina depende de uma

combinação de circunstâncias que envolvem desequilíbrios minerais devido à dieta, observáveis com o perfil metabólico apropriado. Nos ruminantes, que possuem uma urina normalmente alcalina devido à presença de grandes quantidades de bicarbonato de K, o aumento de P ou Mg por causa de dietas ricas em cereais, provoca queda do pH e aumento dos níveis de P e Mg na urina com precipitação e formação de cálculos. Os machos são propensos a sofrer mais devido a ter a uretra mais longa, estreita e convoluta. O perfil metabólico, neste caso, revela hiperfosfatemia e hipermagnesemia, com ou sem hipocalcemia. O tratamento consiste na adição de carbonato de Ca no alimento para inibir a absorção de P no intestino. Em ocasiões, principalmente nos ovinos, pode ser observada uremia por obstrução do trato urinário, que em casos extremos pode levar a ruptura da bexiga.

## **11. Transtornos ósseos**

Entre as doenças ósseas, a osteoporose tem bastante incidência principalmente em vacas de alta produção, devido à desmineralização do osso quando se combinam a saída de altas quantidades de Ca no leite com deficiência de Ca na alimentação por um período relativamente prolongado. O teste sanguíneo para diagnosticar o problema pode incluir Ca, P, Mg e fosfatase alcalina no plasma e prolina na urina. A prolina é um aminoácido abundante na matriz óssea, que pode estar sendo excretado em excesso quando ocorre osteoporose. Dietas com excesso de P (cereais) podem causar hiperfosfatemia e hipocalcemia e conduzir à osteoporose. Os animais mais suscetíveis a sofrer osteoporose, além das vacas de alta produção, são as ovelhas e os cavalos.

A osteopetrose, causada por excesso de consumo de Ca, especialmente em cães e touros, leva a excessiva mineralização dos ossos causando engrossamento do osso e exostose. No perfil sanguíneo não é observado excesso de Ca. Pelo contrário, devido à secreção de calcitonina em resposta aos níveis elevados de Ca, o que pode ser detectado é hipocalcemia e hipofosfatemia com baixa atividade de fosfatase alcalina.

## **12. Infertilidade**

O problema da infertilidade é multifatorial, muitas vezes em relação com o manejo e a alimentação. Entretanto, o perfil metabólico como ferramenta para detectar anormalidades na química sanguínea pode relacionar problemas metabólicos com

infertilidade. Um dos principais problemas que causa baixa fertilidade nos rebanhos, qual seja, a falha na detecção de estros, não tem como ser monitorado mediante o perfil metabólico. Entretanto, mediante a análise de progesterona no leite é possível saber se o tempo de inseminação foi correto e pode ser diagnosticada, de forma precoce, a gestação. Amostras no dia da inseminação e 21-23 dias após, revelam se a inseminação foi feita no dia apropriado. A concentração do hormônio deve estar baixa ( $< 0,5$  ng/mL) no dia da inseminação e alta aos 21-23 dias pós-inseminação se o animal está gestante. Teores de progesterona no leite entre 1 a 2 ng/mL são considerados limites entre uma vaca gestante e uma vazia (Figura 1). O teste de gestação é mais confiável no resultado negativo ( $> 95\%$ ) que no resultado positivo (86%), posto que neste último caso pode ser confundido com animais que tenham ciclos estrais longos ( $> 23$  dias).

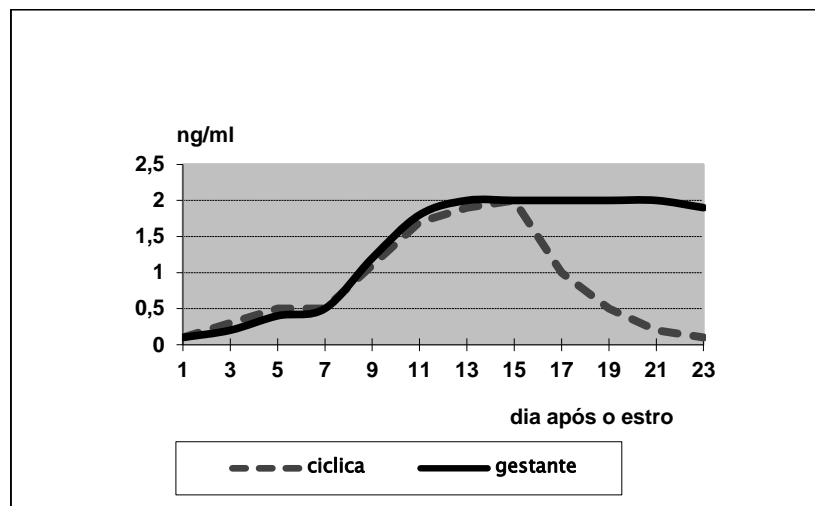


Figura 1. Perfil de progesterona (ng/mL) em vacas cíclicas e gestantes.

Vários metabólitos têm sido estudados em relação com a fertilidade. Entre os mais estudados estão a glicose e a albumina. Com relação à glicose os resultados são inconsistentes. Às vezes a hipoglicemia é relacionada com infertilidade, às vezes não se encontra relação. Baixos níveis de glicose sanguínea têm sido indicados como causa de fertilidade reduzida, especialmente em vacas no pós-parto. A hipoglicemia também tem sido responsabilizada por causar anestro, falhas na ovulação e diminuição da taxa de gestação. Sugere-se que exista um nível de glicose abaixo do qual a fertilidade é inibida. De qualquer forma, como nos ruminantes a síntese de glicose depende de um adequado funcionamento hepático, o mais racional a fazer é avaliar o fígado mediante os principais indicadores de sua função, isto é, enzimas (AST, GGT, FA) conjuntamente com a glicose.

No caso da albumina sabe-se que fisiologicamente seu nível no sangue pode diminuir após o parto, devendo recuperar-se gradativamente durante o pós-parto. A capacidade dessa recuperação está diretamente relacionada com a reativação ovárica nesse período. A fertilidade na vaca diminui se a concentração de albumina estiver abaixo de 30 g/L. Aquelas vacas que tendem a manter os níveis de albumina mais estáveis, têm tendência a serem mais férteis. De qualquer forma, a lenta recuperação dos níveis de albumina após a queda no parto pode estar relacionada com problemas no funcionamento hepático que diminuem a síntese de albumina e outras proteínas. Por outra parte, vacas com níveis elevados de globulinas geralmente requerem de maior número de serviços por concepção, o que pode estar relacionado com estados inflamatórios ou infecciosos.

Muitos trabalhos mencionam a influência negativa que uma inadequada nutrição pode causar sobre a fertilidade. O déficit energético, que às vezes podem conduzir a uma cetose, pode afetar a função hepática devido à acumulação de corpos cetônicos e à excessiva mobilização de lipídios que causa infiltração gordurosa no fígado. Considera-se que uma cetonemia acima de 10 mg/dL afeta o fígado e, portanto, a fertilidade. Concentrações de fósforo, potássio, proteínas totais e ureia têm sido relacionadas com baixa fertilidade em rebanhos bovinos. O excesso de proteínas e de ureia podem causar problemas de morte embrionária, diminuindo, portanto, a taxa de concepção. O anestro em vacas tem sido relacionado com níveis inadequados de fósforo e de beta-carotenos na dieta. A deficiência de alguns microminerais tais como cobre, selênio e cobalto têm sido relacionados com infertilidade. Igualmente a diminuição dos níveis de Ca, Mg e Na tem sido apontada como causa de infertilidade.

## Referências

- Adams, R. S., Stout, D. C., Kradel, S. B. et al. (1978). Use and limitations of profiles in assessing health or nutritional status of dairy herds. *J. Dairy Sci.*, 61, 1671.
- Bastos, E. & Ribeiro, L. A. (1998). Doenças carencias e metabólicas. In *Curso de doenças dos pequenos ruminantes*. Módulo 1. Brasília: Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior.
- Bouchat, J. C., Doize, F. & Paquay, R. (1980). Effect of fasting on blood composition and nitrogen losses in the adult sheep depending on previous diet and body weight. *Reprod. Nutr. Dev.*, 20, 77-92.
- Bruss, M. L. (1996). Selected metabolic diseases of goats. In Panizo, C. G. & Montana, F. P. (Eds.). *Sanidad y producción de rumiantes en el área del mediterráneo*. (pp. 119-125). Murcia, España: Federación Mediterránea de Sanidad y Producción de Rumiantes.

- Collins, J. D. (1979). Metabolic profiles tests for Dairy Cattle. *Irish Vet. J.*, 79, 26-31.
- Contreras, P. A. (1998). Enfermedades metabólicas en vacas de alta producción. *Therios suplemento especial, octubre*.
- Contreras, P. A., Valenzuela, L. et al. (1996). Desbalances metabólicos más frecuentes en rebaños de pequeños productores de leche, Valdivia-Chile. *Arch. Med. Vet.*, 28, 39-50.
- Cote, J. F. & Hoff, B. (1991). Interpretation of blood profiles in problem dairy herds. *The Bovine Practitioner*, 26, 7-11.
- Fajardo, H. & Viamonte, M. I. (1992). Algunas alteraciones metabólicas asociadas a la infertilidad de los rumiantes. *Rev. Cub. Cienc. Vet.*, 23, 33-44.
- González Montaña, J. R. & Rejas López, J. (1995). Toxemia de la gestación. *Med. Vet.*, 12, 513-522.
- Payne, J. M. & Payne, S. (1987). *The metabolic profile test*. Oxford, UK: Oxford University Press.
- Rowlands, G. J. & Manston, R. (1983). Decline of serum albumin concentration at calving in dairy cows: its relationships with age and association with subsequent fertility. *Res. Vet. Sci.*, 34, 90-96.
- Wittwer, F., Heuer, G., Contreras, P. A. & Böhmwald, H. (1993). Valores bioquímicos clínicos sanguíneos de vacas cursando con decúbito en el sur de Chile. *Arch. Med. Vet.*, 15, 83-88.

## **11. Transtornos metabólicos que afetam a qualidade do leite**

*Luis Barros*

*Universidade da República*

A secreção láctea é importante na nutrição humana e animal e, conforme a variação das necessidades de alimentação e das preferências do consumidor, o enfoque da produção tem modificado com o tempo. Nesse sentido, inicialmente interessou o volume e a qualidade higiênica do leite; depois o teor gorduroso e, atualmente, também o teor proteico. Estas demandas do mercado têm influenciado o manejo da alimentação e os hábitos dos animais, quem têm sido exigidos metabolicamente para cumprir com as necessidades produtivas dos estabelecimentos leiteiros. O equilíbrio entre a produção e a saúde das vacas é delicado sob determinadas condições, sendo uma necessidade técnica estabelecer as causas de variação na composição do leite para manter um sistema de produção sadio e economicamente rentável. Neste trabalho serão tratados alguns dos fatores metabólico-nutricionais mais importantes que afetam a qualidade do leite no que concerne a produção de gordura, proteínas e a estabilidade física do leite.

Genericamente poderiam classificar-se os diferentes fatores metabólico-nutricionais que afetam a composição do leite como a seguir: (i) Fatores do meio ambiente: nutrição (composição da dieta e da fibra), alimentação (pastagem, ração, suplementos, aditivos), manejo (nível de produção) e sazonais. (ii) Fatores internos: genéticos, sanitários (mastite), balanço metabólico-energético e período de lactação. (iii) relação alimentos – metabolismo – leite.

### **Fermentação ruminal e composição do leite**

A fermentação ruminal exerce uma ação sobre a composição do leite que é muito variável considerando os diferentes elementos que intervêm como precursores dos componentes do leite. Nesse sentido, as proteínas, conforme sejam absorvidas diretamente pelo intestino (na forma de aminoácidos) ou sofram o processo de fermentação que as incorpora na proteína bacteriana podem intervir na proteína láctea em percentagens relativos de 40% e 60%, respectivamente. O amido e os açúcares participam mediante o ácido propiônico na formação de 50% da lactose. A fibra fermentável

participa em 20% da gordura butirométrica através do ácido butírico, enquanto que a gordura absorvida diretamente pelo intestino pode participar em 80% da gordura do leite (Figura 1).

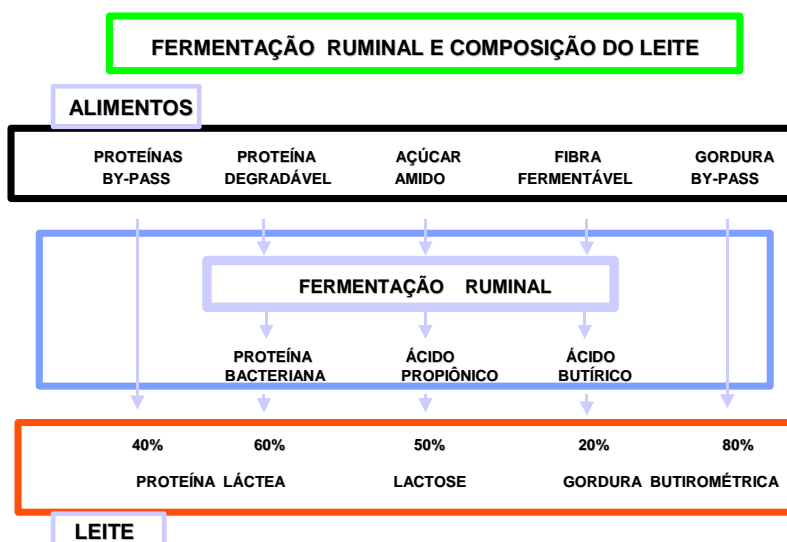


Figura 1. Elementos da dieta que intervêm com composição centesimal variável conforme a sua fermentação no rúmen ou sua passagem intestinal (Hoover, 1996).

### Gordura do leite

A produção de gordura no leite tem sido um fator de desenvolvimento na produção devido aos estímulos econômicos que o produtor tem recebido de parte do setor industrial, desde algum tempo atrás. O interesse em produzir maior quantidade de gordura por litro de leite tem mobilizado o setor para uma melhora técnica na alimentação e o manejo. Com esse tecnicismo, tem sido conhecido uma série de fatores que influem no teor butirométrico do leite. A fim de classificá-los para o seu estudo podem ser considerados aqueles mais gerais e os diretamente relacionados com a dieta. Neste ponto é interessante considerar que quando são realizadas amostragens para a medição de gordura diretamente em vacas em ordenha, deve levar-se em conta que a “descida” da gordura no úbere durante o tempo de ordenha é diferente, sendo o leite do início muito menos gordurosa e mais concentrada no final. Isso indica, na prática, que retirar amostras dos primeiros jatos é um fator importante de erro de amostragem, de modo que o controle durante a ordenha deve realizar-se com um medidor que retire alíquotas durante todo esse tempo. Para a



consideração do tema, são explicitados os fatores de variação da quantidade de gordura produzida pela glândula mamária, a formação da gordura do leite, a composição do leite e o efeito de fatores como o consumo de gordura na dieta, a carência energética e a acidose ruminal.

Existem diferentes fatores que influem na quantidade de gordura do leite, entre os quais se destacam: (i) genéticos: raças ou linhas genéticas dentro da raça; (ii) nível de produção (o aumento da produção diminui o teor butirométrico); (iii) período de lactação (com 8-10 semanas, maior proporção de cadeias curtas); (iv) período de gestação (independente do período de lactação, pico em mais de 32 semanas); (v) sazonais (alimentos, parições).

A variação do teor butirométrico devida à dieta envolve, entre outras influências: aporte energético, pouca influência do aporte proteico, aporte de gordura, tipo de alimento (forragem, feno, silagem, concentrado), quantidade e tipo de fibra, concentrado (> 50 % MS), composição do alimento (semente de algodão, farelos), apresentação do alimento (primeiro feno, depois concentrado), relação forragem/concentrado (60/40%), tamanho das partículas (menor tamanho = menor teor butirométrico) e frequência de distribuição (aumento da frequência melhora o teor butirométrico).

#### *Origem da gordura do leite*

De forma muito esquemática poderia sintetizar-se que os precursores da gordura do leite têm sua origem em metabólitos circulantes no sangue que aportam a matéria prima principal para a formação de gordura pela glândula mamária. O leite contém por volta de 4% de gordura, variável conforme uma série de fatores intrínsecos e extrínsecos ao animal. Na Figura 2 se mostra um esquema representando os principais precursores. Os metabólitos absorvidos pela parede ruminal para o sangue, acetato e  $\beta$ -hidroxibutirato, bem como aqueles circulantes provenientes do tecido adiposo ou do fígado, os ácidos graxos não esterificados (AGNE) ou os triglicerídeos e também a glicose, são os precursores bioquímicos que capta a célula secretória mamária através de sua membrana para transforma-los em gordura neutra.

## Origem da gordura do leite

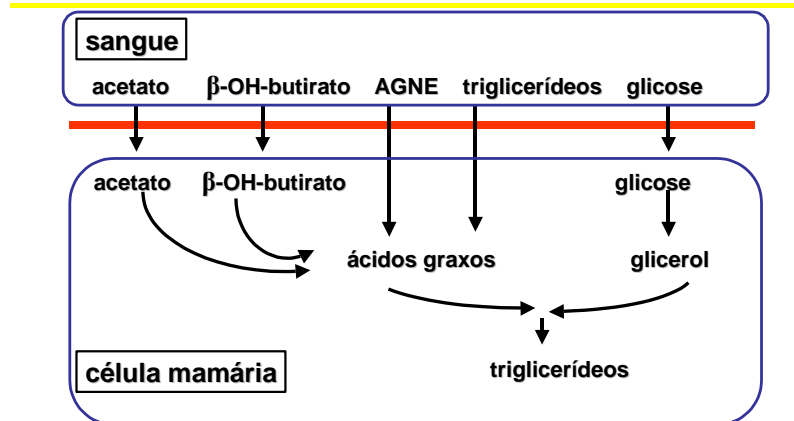


Figura 2. Precursores circulantes no sangue captados pela célula epitelial mamária utilizados para a formação de gordura neutra (modificado de Enjanbert, 1994).

Enfocando uma relação entre o rúmen, o intestino e a glândula mamária no processo de formação da gordura butirométrica, poderia estabelecer-se uma via onde: (1) A gordura neutra que chega ao rúmen por via digestiva, é transformada seguindo dois processos: primeiro ocorre a hidrólise dos triglicerídeos gerando ácidos graxos livres e glicerol. Esse glicerol é um precursor do ácido propiônico que será utilizado para a formação de lactose do leite. Num segundo passo, os ácidos graxos livres de cadeia longa sofrem um processo de biohidrogenação no rúmen, mecanismo que permite um aumento de sua absorção por parte das células do intestino. A biohidrogenação produz uma maior taxa de ácidos graxos saturados que permitem um aumento na digestibilidade e, por tanto, de seu valor nutritivo tanto para o terneiro como para o humano. Existe uma relação e um controle entre a quantidade de C18:1 e de C18:2 circulantes, de forma que um excesso do primeiro inibe a formação do segundo. (2) No intestino sofrem novamente esterificação convertendo-se em triglicerídeos que são absorvidos por via linfática/sanguínea e distribuídos até a glândula mamária. (3) Esses triglicerídeos são captados pelas células mamárias para a formação de gordura neutra de cadeia longa com 18 carbonos, por sua esterificação com glicerol. Por outra parte, a mesma célula mamária realiza o segundo processo de significância na formação da gordura do leite (Figura 3) que consiste na síntese de gorduras de cadeia curta (4 a 16 carbonos).

## Origem da gordura do leite

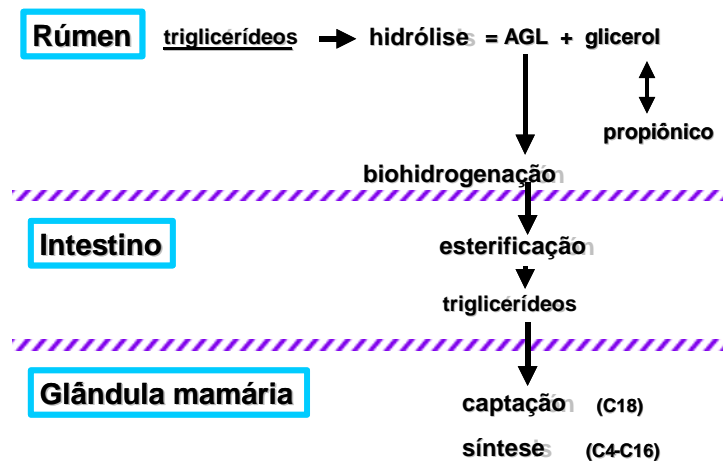


Figura 3. Origem da gordura do leite em relação com o rúmen, o intestino e a glândula mamária.

### Composição da gordura do leite

A composição da gordura do leite pode resumir-se desde o ponto de vista de sua gênese em ácidos graxos com cadeias carbonadas de 4 a 20 carbonos, sendo chamados de cadeia curta (4 a 12 C) e de cadeia longa (14 a 20 C). As proporções relativas dessas cadeias dependem da regulação dos mecanismos de secreção/excreção por parte das células mamárias e do aporte sanguíneo na glândula mamária. Os ácidos graxos de cadeia curta (C4, C6, C8, C10, C12) perfazem 13,1%, sendo o C4 o mais abundante (3,3%). Os ácidos graxos de cadeia longa têm diferentes proporções. Assim, os C14 têm 14,0%, os C16 32,9% e os C18 39,5% (Palmquist,1993). É importante assinalar aqui que a secreção de gordura desde a célula mamária para o lúmen dos ácinos glandulares, é feita na forma de glóbulos de gordura recobertos por uma membrana plasmática, que atua de modo a proteger da degradação dos triglicérides. Os glóbulos de gordura podem ser de dois tipos: pequenos (< 1 µm de diâmetro) que representam ao redor de 2% do total de gordura e maiores (1 a 10 µm de diâmetro), que migram dentro da célula para dirigir-se na membrana apical e ser secretados ao exterior. Este processo é ativo e não somente de passagem através das membranas celulares.

### *Ingestão de gordura*

A ingestão de gordura por parte da vaca leiteira é um elemento importante como fonte para a taxa butirométrica. Existem uma série de fatores e de mecanismos de ação da alimentação que influem sobre o conteúdo final de gordura no leite. Há fatores relacionados com o rúmen, com o metabolismo energético e com o aporte de precursores à glândula mamária que afetam o volume de produção de leite e a quantidade de gordura produzida por dia pelo animal. O aporte em quantidade e qualidade de gordura na dieta tem um efeito direto sobre a fermentação ruminal, provocando, por uma parte a modificação na ingestão por efeito da saciedade no animal e, por outro, pela modificação das fermentações ruminais com modificação da flora celulolítica. Os micro-organismos ruminais crescem de forma diferencial variando as concentrações de ácido propiônico, acético e butírico que induzem a um desvio na formação de corpos cetônicos, os quais são os precursores utilizados pelos mamócitos para a síntese de ácidos graxos não esterificados. As variações de pH do rúmen também influem sobre a variação da concentração relativa dos ácidos graxos voláteis, que são absorvidos pela parede ruminal e que são distribuídos por via sanguínea, afetando diretamente a formação de gordura pelo déficit no aporte de corpos cetônicos (acetoacetato e  $\beta$ -hidroxibutirato) pelo desvio do seu metabolismo (Figura 4).

A absorção de lipídeos está vinculada estreitamente com o balanço energético pela relação existente entre o metabolismo hepático e o tecido adiposo que provocam a modificação da relação reserva/excreção dos lipídeos do organismo e, dessa maneira, a regulação das reservas corporais de energia. Essa regulação está diretamente relacionada com o aporte de ácidos graxos de cadeia longa que são oferecidos à célula secretória mamária e, por tanto, com a quantidade relativa destes ácidos no produto final, que estão também vinculados com o volume secretado, particularmente pelo controle celular da regulação do processo de síntese/captação de ácidos graxos para manter um balanço proporcional na secreção de gordura (Figura 4).

A importância prática desses efeitos pode ser evidenciada no balanço energético negativo obrigatório no início da lactação, onde a vaca não pode consumir os alimentos necessários para equilibrar os requerimentos impostos pela produção de leite devido à limitação do volume ruminal. A deficiência energética nesse período, manifestada por uma perda de peso, provoca, por um lado, a mobilização de gordura de reserva, com o conseguinte ingresso de triglicerídeos na circulação sanguínea aportando os ácidos graxos

de cadeia longa ao leite e, por outra parte, uma redução do balanço dos ácidos graxos insaturados. Nas vacas de alta produção, durante o período de início de lactação e no pico de lactação, ocorre um aumento na mobilização de gordura de depósito, com maior risco de cetose e uma modificação na composição da gordura do leite.

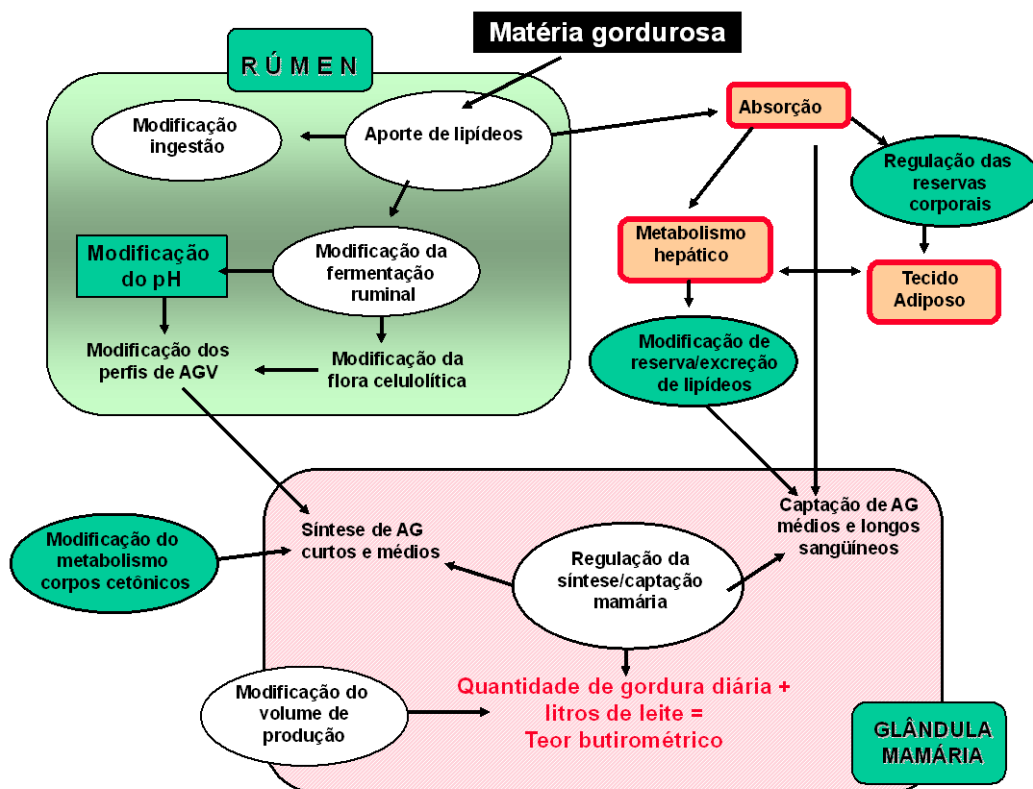


Figura 4. Relação entre a ingestão de matéria gordurosa e o teor butirométrico em função dos efeitos sobre o rúmen, o balanço energético e a glândula mamária (Labarre, 1994).

Finalmente, a digestibilidade dos lipídeos depende da origem da gordura aportada na dieta. Por exemplo, a digestibilidade depende conforme o aporte seja: (i) de fibra digerível que se transforma em gordura; (ii) de gordura protegida, que aumenta a absorção em nível intestinal, diminuindo sua transformação no rúmen, ou (iii) se sua origem provém de alimentos contendo maior quantidade de gordura insaturada, como é o caso de alguns farelos (girassol ou soja) comparadas com pastagem.

Em resumo, o aporte de gordura pela dieta e sua transferência para a gordura do leite, depende dos seguintes fatores já indicados: biohidrogenação ruminal, absorção e deposição no tecido adiposo.

### *O balanço energético negativo*

O balanço energético negativo provoca uma série de atividades metabólicas nos diferentes tecidos que trazem como consequência a glicogenólise, a gliconeogênese e a mobilização dos lipídeos de reserva. Existem notórias diferenças na concentração dos corpos cetônicos circulando no sangue entre as vacas secas e as vacas em lactação, como consequência do aumento da mobilização por efeito da produção de leite, uma vez que esta via não tem nenhuma regulação: sua intensidade depende principalmente da disponibilidade de acetil-CoA nos hepatócitos dependendo fundamentalmente da  $\beta$ -oxidação dos ácidos graxos. Esse aumento de corpos cetônicos no sangue pode ser evidenciado indiretamente pelo seu aumento no leite (Tabela 1).

Tabela 1. Estado natural e distribuição de corpos cetônicos (mmol/L) na circulação plasmática livre (Bruss, 1997)

<b>Estado</b>	<b>Beta-OH-butirato</b>	<b>Acetoacetato</b>
Vaca seca	0,27 $\pm$ 0,04	0,01 $\pm$ 0,003
Vaca em lactação	0,95 $\pm$ 0,18	0,13 $\pm$ 0,03

O balanço energético negativo utiliza os mesmos mecanismos de compensação sem importar se o desequilíbrio provém: (i) da relação entre o déficit de ingestão e o gasto de início de lactação; (ii) por efeito da cetose; ou (iii) como consequência de um jejum forçado dos animais. Em todos esses casos, a consequência sobre a quantidade e o tipo de gordura do leite tem uma resposta similar, dependendo da sua intensidade, da duração ou da gravidade dos processos patológicos. O efeito sobre a gordura do leite será de um aumento de ácidos graxos de cadeia longa provenientes da mobilização das reservas lipídicas e, simultaneamente, de uma diminuição na síntese dos ácidos graxos de cadeia curta pelo menor aporte de precursores à glândula mamária.

### *Acidose ruminal*

A acidose ruminal é uma indigestão dos ruminantes provocada por um erro dietético devido ao consumo excessivo de carboidratos facilmente fermentescíveis e caracterizada por um desvio da fermentação para a acidez, cursando com um quadro clínico agudo de desidratação e morte. Suas manifestações clínicas agudas se apresentam poucas horas

após a ingestão de alimentos contendo uma alta proporção de carboidratos simples e baixos em fibra. Os casos que se apresentam com mais frequência são as formas subclínicas e as crônicas que não são tão dramáticas e que dependem majoritariamente do manejo e da alimentação. Estas situações têm mais importância econômica que patológica porque provocam a diminuição da produção láctea e alterações na composição do leite.

Os alimentos mais perigosos são os grãos, as frutas e as farinhas. A diminuição relativa de fibra estimula o crescimento de micro-organismos que degradam os carboidratos simples diminuindo aqueles com atividade celulolítica. Uma relação de forragem/concentrado superior a 40/60 é de alto risco para os ruminantes e, particularmente, para aqueles que não se encontram acostumados com essa dieta. Os acidentes de manejo, tais como animais soltos com livre acesso a depósitos de alimento ou silos, bem como a falta de água em animais em confinamento (*feedlot*) são os fatores mais frequentes de acidose ruminal aguda. Entre os alimentos os grãos, particularmente, o trigo, a cevada e o milho estão entre os mais perigosos por seu alto conteúdo de amido.

O aporte de carboidratos facilmente fermentescíveis, como o amido ou os açúcares, modifica o crescimento diferencial dos micro-organismos ruminais, desviando o pH para a acidez. Esse deslocamento do pH favorece o crescimento de bactérias Gram-positivas, desaparecendo os protozoários e desenvolvendo, primeiro, *Streptococcus bovis* e, depois, *Lactobacillus* sp. os quais vão utilizando e modificando o substrato ruminal, levando a que os processos bioquímicos tendam a manter o meio cada vez mais ácido. As fermentações ruminais vão modificando paulatinamente produzindo uma mudança nas concentrações dos ácidos graxos voláteis. Os ácidos graxos voláteis variam em função do pH: o ácido propiônico aumenta inicialmente, depois aumenta fortemente o ácido láctico, diminuindo o acetato e o  $\beta$ -hidroxibutirato.

A variação diferencial dos ácidos graxos voláteis e, sobretudo, o acúmulo de ácido láctico no rúmen, provoca um aumento na pressão osmótica intra-ruminal forçando a passagem de água do compartimento vascular para o pré-estômago, levando o animal a uma desidratação e, conseqüentemente, a um hidro-rúmen. O ácido láctico acumulado no rúmen tende a manter-se como substrato estável que passa ao intestino, onde é absorvido provocando aumento da lactacidemia e uma acidose sanguínea que deve ser compensada pelo organismo. Nos casos graves, a variação do equilíbrio ácido-básico do sangue, leva à morte do animal por acidose metabólica. As mudanças na concentração dos subprodutos

terminais do metabolismo do rúmen, trazem como consequência o aumento de uma absorção diferencial dos ácidos graxos que chegam na glândula mamária por via circulatória e induzem mudanças no metabolismo do animal. No organismo se produz uma deposição maior de gordura de reserva, por efeito da insulina que responde ao aumento no aporte de precursores de glicose (ácido propiônico) favorecendo a lipogênese no tecido adiposo.

Em resumo, os efeitos da mudança de pH ruminal para a acidose provocam os seguintes fenômenos: aumento do ácido propiônico, efeito insulínico (favorece a lipogênese com relação à lipólise), insuficiente aporte de ácido acético, diminuição da biohidrogenação de C18:2 pelo baixo pH no rúmen e inibição da neossíntese de AG-*trans*-insaturados (C18:1) na glândula mamária por sua elevada quantidade circulante.

A consequência destas mudanças da acidose no metabolismo ruminal e no metabolismo geral provocam a diminuição do teor butirométrico do leite. Essa diminuição da gordura do leite tem sido denominada síndrome de baixo conteúdo gorduroso do leite (Engvall, 1980). O controle da acidose ruminal pode realizar-se utilizando substâncias tamponantes (bicarbonato de sódio e de magnésio) na ração ou mediante utilização de niacina (que aumenta a taxa butirométrica no início da lactação), ou colina ou metionina não protegida para melhorar a utilização dos aminoácidos glicofomadores. Mais popularmente utilizados, a rumensina ou os antibióticos, são de preferência pelo crescimento diferencial de micro-organismos ruminais.

## **Proteína do leite**

### *Quantidade e composição*

A qualidade do leite de vaca como produto está condicionada a uma série de fatores de variação que influem na sua composição. A quantidade de proteína total no leite integral cru é de 3,5 %. É de interesse separar os diferentes compostos nitrogenados do leite denominados genericamente de proteínas. Esta composição inclui as caseínas chamadas de proteínas “verdadeiras”, mas também a albumina e as globulinas (de origem láctea e sanguínea), enzimas, aminoácidos, peptídeos e ureia. Para efeitos produtivos devem considerar-se diferencialmente os seguintes produtos nitrogenados: caseínas, proteínas do soro do leite e nitrogênio não proteico.



As proteínas são sintetizadas pela glândula mamária a partir de aminoácidos precursores e sua secreção é regulada pela célula mamária. Esta célula sintetiza as diferentes proteínas nos ribossomos e no retículo endoplasmático rugoso, mediante uma codificação genética. São conhecidas variantes de algumas proteínas nos bovinos, por exemplo, os alelos A e B das caseínas beta ou da lactalbumina que apresentam um interesse do ponto industrial pelo rendimento y pelas características físicas que lhe outorgam a diferentes subprodutos (queijos, cremes). As diferentes frações das proteínas têm significado na fabricação de derivados lácteos, pelo que a sua determinação e quantificação é de interesse industrial. Por uma parte, por sua utilização em subprodutos e, por outra, para evitar ter que pagar como proteína substâncias nitrogenadas não proteicas, além da detecção de adulterações ou fraudes.

Analisando as proteínas do leite por meio de eletroforese, com gel de poliacrilamida (PAGE), podem determinar-se as diferentes frações que a compõem. São identificadas com facilidade as bandas das seguintes proteínas (Tabela 2): lactoferrina (Lf), albumina sérica bovina (BSA), imunoglobulinas séricas de cadeia pesada (Ig-h), caseínas (CN) e suas frações  $\alpha$ S1,  $\alpha$ S2,  $\beta$  e  $\kappa$ , beta-lactoglobulinas (LG), alfa-lactalbumina (LA) e algumas frações menores. A quantificação das bandas de proteínas mediante processo de análise de imagens, permite expressar os resultados médios como porcentagem sobre o total de proteínas da corrida eletroforética de uma amostra de leite. No caso da Tabela 2, as amostras provêm do tanque de 86 estabelecimentos leiteiros e são expressados como médias dos valores percentuais obtidos.

Tabela 2. Valores percentuais das frações proteicas do leite (Barros et al., 2001)

	<b>Lf</b>	<b>BSA</b>	<b>Ig-h</b>	<b><math>\alpha</math>S1</b>	<b><math>\alpha</math>S2</b>	<b><math>\beta</math></b>	<b><math>\kappa</math></b>	<b>LG</b>	<b>LA</b>
N	701	630	614	753	154	752	686	652	460
Média	4,4	3,3	4,0	28,6	7,4	17,2	8,2	9,9	8,1
DP	1,2	1,3	2,5	6,5	5,2	4,6	3,4	4,1	4,6
CV (%)	27	39	62	23	70	27	41	42	57

DP= desvio padrão, CV= coeficiente de variação

As variações na concentração e as variantes nas suas formas genotípicas das frações de caseínas cobram importância crescente pelo interesse no rendimento dos subprodutos. Por exemplo, o leite proveniente de vacas de raça Holandesa com alelos B da CN- $\alpha$ S1, da CN- $\beta$ , da CN- $\kappa$  e da  $\beta$ -lactoglobulina, produzem 9% a mais de matéria seca de queijo

do que vacas com a variante A. Por outra parte, a raça também influi na composição. Assim, a raça Jersey tem uma maior frequência da variante B da CN-κ que a raça Holandesa (DePeters, 1992).

### *Variações nas proteínas do leite*

Quando se discute sobre as variações das proteínas do leite deve diferenciar-se inicialmente entre as variações na quantidade (g/dia) e na composição (%). A regulação da secreção permite que a composição das proteínas permaneça relativamente constante, apesar de aumentos no consumo de proteínas pela dieta. O aumento da proteína total do leite em resposta ao aporte da dieta se dá fundamentalmente sobre a base do aumento do nitrogênio não proteico. O rúmen possui importância no metabolismo proteico da vaca, na medida em que os micro-organismos ruminais processam a proteína alimentar integrando-a com sua própria proteína que será depois digerida pelo tubo digestivo. O aporte desta proteína bacteriana para a glândula mamária pode constituir até 60% do aporte em nitrogênio. O restante da proteína da dieta (40%) é aquele que ultrapassa a barreira ruminal e é absorvida pelo duodeno. Assim, as proteínas protegidas passam diretamente para o duodeno, sendo a forma como nutricionalmente aumenta a absorção proteica. São denominadas proteínas protegidas diante da ação das bactérias ruminais aquelas como caseínas ou farelos (soja, colza) ou pelo tratamento com formaldeído ou calor.

O aporte de ureia como fonte de nitrogênio está limitado em sua absorção pelo aporte de energia para permitir a metabolização por parte dos micro-organismos ruminais, mas também pode passar por via sanguínea para a glândula mamária e diretamente para o leite, existindo uma forte correlação entre as concentrações no sangue e no leite. Esse nitrogênio não é pago ao produtor naqueles sistemas de pagamento por proteína verdadeira.

O aporte proteico da dieta está estreitamente relacionado com a produção total de leite. O teor de proteínas no alimento, que não é limitante maior na secreção de proteína láctea, intervém aumentando a produção total leite. Esse aumento vem acompanhado do aumento na quantidade total de proteína secretada por dia.

A relação entre proteína e energia da dieta revela um papel preponderante na utilização de ambos os nutrientes, embora às vezes na prática seja difícil diferenciar o

efeito de um sobre o outro. Todavia, o manejo da relação entre forragem e concentrado é um elemento importante a levar em conta quando se estabelece o objetivo de aumentar a produção total de leite e seu conteúdo em proteínas.

A relação entre o conteúdo de gordura/proteína do leite é um indicador apropriado para as mudanças na composição do leite referidos com a resposta à dieta, uma vez que, em geral, as respostas do aumento de gordura e de proteína do leite vão em sentidos opostos quando a dieta muda. É conhecido um efeito de depressão das caseínas no leite pelo excesso de gordura na ração.

Um limitante do ponto de vista proteico pode constituir o aporte deficitário de aminoácidos essenciais na dieta (fenilalanina, tirosina, metionina, triptofano), embora a glicose e o acetato possam atuar como precursores para a sua síntese na glândula mamária. Na prática nutricional, a metionina e a lisina são os fatores mais aceitos como limitantes na secreção láctea. Existem outros efeitos diferentes da dieta que produzem variações nas quantidades de proteínas do leite. É conhecida uma variação sazonal nas proteínas do leite, de forma que no verão se encontram os valores mais baixos, bem como uma diminuição na firmeza do coágulo. Também influi o tempo de lactação observando-se menores teores entre a 5ª e a 10ª semana aumentando paulatinamente no final da lactação. As alterações na secreção de proteínas ocorrem em carências alimentares severas, em afecções graves da integridade hepática, em parasitismos ou nas afecções inflamatórias da glândula mamária onde diminuem as caseínas e aumentam as proteínas do soro. A influência da mastite subclínica também é de importância por sua prevalência e pela secreção diferencial de proteínas que resulta, por uma parte da reação das células mamárias e, por outra, da atividade proteolítica das enzimas (plasmina) de origem bacteriana que atuam diretamente desde a cisterna do úbere.

### **Estabilidade do leite**

A qualidade do leite de vaca também pode ser avaliada mediante a prova do álcool, que consiste na mescla de partes iguais de álcool 70° e leite cru integral. Esta é uma das provas a que é submetido o leite após a ordenha, e é a que determina o aceite ou rejeição por parte do laticínio no momento de recepção, sendo utilizada para medir a estabilidade física do leite. A prova do álcool é empregada também para medir indiretamente a estabilidade do leite ao tratamento térmico ou ao pH, uma vez que há um paralelismo no

comportamento da estabilidade às três provas (álcool, calor, pH). Inicialmente, a prova do álcool foi utilizada pela indústria como uma medida de pH natural do leite, pela relação que existe entre ambos parâmetros: a acidez produz a perda da estabilidade provocando a floculação das proteínas. A prova do álcool tem sido usada tradicionalmente para classificar os leites de queijaria, isto é, para determinar a sua aptidão à coagulação pela pressão. Por outra parte, existe uma relação inversamente proporcional entre a estabilidade das proteínas e o teor natural de cálcio iônico do leite. A prova do álcool é sensível à variação do cálcio iônico por provocar uma diminuição da solubilidade desse mineral. Esta alteração na estabilidade do leite é conhecida desde algum tempo. Em Utrecht, desde a década de 1930, tinha sido denominada de síndrome de alteração do leite.

Tem sido constatada uma certa influência da época do ano, sendo a alteração aparentemente mais frequente nos meses de outono, na mudança de estação de inverno para primavera e também relacionada com períodos de seca. Existe uma evidente relação entre a positividade da prova e o período de lactação da vaca, uma vez que se constata mais frequentemente no início e no fim da lactação (Barros, 1999). Empiricamente, têm sido relacionadas essas variações com dietas ou pastos ricos em cálcio, com deficiências ou desbalanços minerais (Ca, P, Mg), com mudanças bruscas da dieta, sendo inconstante a resposta a suplementações minerais. O teor de cálcio ionizado está diretamente relacionado com a positividade da prova do álcool, encontrando-se também variações com relação a outros componentes do leite (Tabela 4).

Tabela 4. Variações da composição do leite individual em função da positividade à prova do álcool (Barros et al., 2000)

Componente	Álcool negativo (n=146)		Álcool positivo (n=70)		Teste t
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
Gordura %	3,40	0,89	3,95	0,96	0,0001
Proteínas %	3,23	0,38	3,49	0,64	0,0002
Lactose %	4,84	0,28	4,65	0,28	0,0000
SNG %	8,68	0,47	8,75	0,71	n.s.
ST %	12,16	1,18	13,04	1,76	0,0001
Células/mL	210.152	323.636	319.175	707.681	n.s.
Crioscopia °C	-0,52	0,01	-0,53	0,02	0,016
Bactérias/mL	563079	1196334	119500	141794	n.s.
Ca <sup>2+</sup> g/L	0,098	0,04	0,117	0,03	0,011
pH	6,59	0,61	6,67	0,14	n.s.

SNG= sólidos não gordurosos, ST= sólidos totais, n.s.= não significativo

Esta alteração é importante por seu aparecimento e desaparecimento espontâneo que provoca perdas econômicas para o produtor, devido ao pagamento diferencial do leite, e para a indústria, devido à má qualidade na terminação de subprodutos (queijos) que não podem ser utilizados em processos que utilizem aquecimento. O inconveniente adicional para o produtor é a falta de soluções concretas que recebe em resposta ao pagamento baixo do seu leite.

## Conclusão

Deve ser enfatizado o interesse que tem o conhecimento e o controle dos fatores metabólico-nutricionais sobre a composição do leite. Particularmente, porque é uma área de trabalho comum de várias disciplinas relacionadas com a produção leiteira, onde devem envidar-se esforços para melhorar o produto por sua importância direta na saúde animal e na nutrição humana. O monitoramento da composição do leite é um elemento importante na prevenção e no diagnóstico de alterações que afetam a produção leiteira e a rentabilidade desse setor primário da economia.

## Referências

- Barros, L. (1987). Perfiles metabólicos. Estudio de cinco años de aplicación en el Uruguay. *XVI Jornadas Uruguayas de Buiatría*, Paysandú.
- Barros, L., Denis, N., González, A. & Núñez, A. (1998). Ionic calcium related to alcohol test in milk. *10<sup>th</sup> International Conference on Production Diseases in Farm Animals*, Utrecht, Holanda.
- Barros, L., Denis, N., González, A. & Núñez, A. (1999). Prueba del alcohol en leche y relación con calcio iónico. *Prácticas Veterinarias*, 9, 315.
- Barros, L., Denis, N., Núñez, A., González, O., Galain, C., De Torres, E. & González, P. (2000). Variaciones de la leche y prueba del alcohol. *21 World Buiatrics Congress*, Punta del Este, Uruguay.
- Barros, L., Ceretta, M. E. & González, P. (2001). Determinación de fracciones proteicas de leche de tambo por electroforesis. *7º Congreso Nacional de Veterinaria*, Montevideo, Uruguay.
- Davies, D. & White, J. (1958). The relation between the chemical composition of milk and the stability of the caseinate complex. II. Coagulation by ethanol. *J. Dairy Res.*, 25, 256-266.
- De Peters, E. & Cant, J. (1992). Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: a review. *J. Dairy Sci.*, 75, 2043-2070.
- Donnelly, W. & Horne, D. (1986). Relationship between ethanol stability of bovine milk and natural variations in milk composition. *J. Dairy Res.*, 53, 23-33.

- Donnelly, W. & Barry, G. (1983). Casein compositional studies. III Changes in Irish milk for manufacturing and role of milk proteinase *J. Dairy Res.*, 50, 433-441.
- Engvall, A. (1980). Low milk fat syndrome in Swedish dairy cows. *Acta Vet. Scan., suppl.* 72, 1-124.
- Enjalbert, F. (1994). Biosynthèse des constituants du lait chez la vache. *Rec. Méd. Vét.*, 170, 353-358.
- Guillou, H., Pelissier, J. & Grappin, R. (1976). Méthodes de dosage des protéines du lait de vache. *Le Lait*, 66, 143-175.
- Hoover, W. & Miller, T. (1996). Feeding for maximum rumen function. In Jordan, E. R. (ed.) *Mid-South Ruminant Nutrition Conference Proceedings*. (pp. 33-46).
- Horne, D. & Parker, T. (1981). Factors affecting the ethanol stability of bovine milk. I. Effect of serum phase components. *J. Dairy Res.*, 48, 273-284.
- Horne, D., Parker, T., Donnelly, W. & Davies, D. (1986). Factors affecting the ethanol stability of bovine skim milk. VII. Lactational and compositional effects. *J. Dairy Res.*, 53, 407-417.
- Horne, D. & Muir, D. (1990). Alcohol and heat stability of milk protein. *J. Dairy Sci.*, 73, 3613-3626.
- King, J. (1979). The effects of ketosis in dairy cows on body weight, milk yield and milk composition. *Br. Vet. J.*, 135, 40-43.
- Labarre, J. (1994). Nutrition et variation du taux de matières grasses du lait de vache. *Rec. Méd. Vét.*, 170, 381-389.
- Laemmli, U. (1970). Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T<sub>4</sub>. *Nature*, 227, 680.
- McLean, D., Graham, B. & Ponzoni, R. (1984). Effects of milk protein genetic variants on milk yield and composition *J. Dairy Res.*, 51, 531-546.
- Palmquist, D., Beaulieu, A. & Barbano, D. (1993). Feed and animal factors influencing milk fat composition. *J. Dairy Sci.*, 76, 1753-1771.
- Pierre, A. (1985). Etude de la stabilité du lait à l'alcool. Solubilité du phosphate et du calcium du lait en présence d'alcool. *Le Lait*, 65, 201-212.
- Walstra, P. & Jenness, R. (1984). *Química y física lactológica*. Zaragoza, España: Ed. Acribia.

## **12. Uso de provas de campo e laboratório clínico em doenças metabólicas e ruminais dos bovinos**

*Jan Bouda & Gerardo Quiroz-Rocha*

*Universidade Nacional Autônoma do México*

### **Coleta e manejo de amostras sanguíneas em bovinos**

A confiabilidade no uso do laboratório como apoio diagnóstico depende em grande medida de que o material utilizado na análise tenha sido coletado e conservado adequadamente. Adicionalmente, para o aproveitamento ótimo das análises de patologia clínica deve existir uma relação estreita entre o médico veterinário clínico e o laboratório de diagnóstico. O envio de amostras inadequadas implica em perda de tempo, de recursos e, em ocasiões, complicações na saúde do animal devido a uma interpretação incompleta ou incorreta de resultados. Frequentemente é argumentado que, na prática bovina, é complicado recorrer ao uso dos laboratórios para apoiar o diagnóstico, uma vez que geralmente estão localizados a grandes distâncias. No entanto, quando se domina o adequado uso das amostras, esta limitante não é significativa.

Cada vez que amostras são enviadas a qualquer laboratório de diagnóstico, é muito importante fazer uma adequada identificação, utilizando material que resista ao manejo, isto é, tintas permanentes resistentes a água, fitas com cola ou etiquetas com adesivo apropriado. É necessário acompanhar às amostras um protocolo que inclua: (i) Identificação do proprietário, médico veterinário ou pessoa responsável, telefone e endereço; (ii) Dados de identificação dos animais amostrados; (iii) Anamnese completa do paciente e/ou do rebanho, sem omitir dados relevantes da história clínica, nutrição, reprodução, produção, etc.; e (iv) Indicação se existe suspeita de doenças infecciosas, especialmente nos casos de zoonoses. Devido às mudanças físico-químicas que ocorrem na amostra com o tempo, deve ser mencionada data e hora da coleta da amostra, bem como o tipo de conservante utilizado.

### *Coleta de amostras*

Existem diferentes métodos para obter uma amostra de sangue: (a) agulha direta: útil e rápido para obter grandes volumes, sua contraindicação mais importante é que causa contaminação da amostra e, especialmente, do meio-ambiente; (b) seringa: não deve ser feito vácuo violento; quando forem usadas seringas com anticoagulante, recomenda-se que esteja na forma líquida; quando o sangue vai ser transferido a outro recipiente, deve ser retirada a agulha da seringa para evitar hemólise na amostra; (c) sistema de tubos com vácuo (*vacutainer*): siga as instruções do fabricante; é necessária certa prática para um manejo eficiente; é importante que, se utilizado algum tipo de anticoagulante, o tubo deve ser cheio até terminar o vácuo para manter as proporções sangue/anticoagulante; (d) sistema de vácuo com tubos de plástico: sua principal vantagem é que o vácuo é regulável; sua utilização está mais orientada para determinações sorológicas, tais como detecção de anticorpos para diferentes patologias.

O principal fator de alteração de resultados é a hemólise, cujas causas mais comuns são as seguintes: (i) provocar vácuo violento na coleta da amostra com agulha de calibre de muito fino; (ii) causar impacto do jato de sangue no fundo do recipiente; (iii) utilizar material úmido com água ou álcool; (iv) usar material sujo ou contaminado; (v) usar material de má qualidade, com bordas ou paredes rugosas; (vi) agitar a amostra ao incorporá-la com o anticoagulante; (vii) provocar choques térmicos tanto por calor quanto por frio; (viii) permitir temperaturas extremas; (ix) manipular bruscamente as amostras para obter o soro antes que o coágulo tenha sido formado.

### *Determinações de bioquímica clínica*

Para este fim é utilizado soro ou plasma. O soro é obtido a partir de uma amostra de sangue extraída sem anticoagulante, esperando o tempo necessário para a formação de coágulo. O tempo que dura a sua formação é muito variável, entre 30 a 180 minutos. Por esta razão, é mais prático enviar ao laboratório amostras de plasma utilizando heparina de sódio como anticoagulante (tubos de tampa verde). O EDTA não deve ser utilizado para determinações bioquímicas. Em recipientes de plástico, o tempo de formação do coágulo é aproximadamente o dobro daquele do vidro. Assim que se forma o coágulo, este deve ser separado das paredes do tubo ou seringa onde foi obtida a amostra utilizando-se de um palito longo de madeira ou de uma pipeta Pasteur. Posteriormente,



deve ser centrifugado a 1.500 g (2.500 a 3.500 rpm) durante 10 minutos e transferir o soro para outro recipiente livre do coágulo. A amostra não deve ser centrifugada e nem colocada em refrigeração antes que o coágulo esteja bem formado, pois se prolonga o tempo de coagulação e existe predisposição à hemólise. É necessário separar o soro do coágulo ou o plasma das células sanguíneas dentro de um período máximo de 2 h depois de tirada a amostra. Se o tempo for maior, as frações dos parâmetros a serem medidos variam devido à troca de elementos entre as fases celular e líquida do sangue.

Assim que estiver separado o soro ou o plasma, é conveniente analisar de imediato (especialmente no caso da glicose). Se não for possível, é conveniente conservar a amostra sob refrigeração (0-4°C). Quando a obtenção dos resultados não for urgente, é possível enviar as amostras congeladas (-8 a -20°C) uma vez que a grande maioria dos parâmetros é estável pelo menos por uma semana nestas temperaturas.

A melhor forma de obter o plasma é coletando as amostras de sangue com heparina como anticoagulante, na proporção de 3 gotas de heparina 1% (0,2 mg ou 200 UI) para cada 10 mL de sangue. É importante mesclar várias vezes de forma suave para incorporar totalmente o anticoagulante com o sangue para que este se conserve em bom estado. A amostra heparinizada deve centrifugar-se a 1.500 g durante 10 minutos, e depois deve ser transferido somente o plasma (livre de células) para um outro tubo, com uma pipeta Pasteur ou com uma seringa. Após, tampar e enviar para o laboratório clínico. Para as análises de bioquímica clínica completa (8-10 metabólitos) é suficiente extrair 3 a 5 mL de plasma, volume que se obtém a partir de 7 a 10 mL de sangue aproximadamente. Nos laboratórios que utilizam microtécnicas, 1,5 mL de plasma é suficiente. Quando se trata de dosar microminerais, particularmente Zn, é recomendado colocar Parafilm ao invés da rolha de borracha para fechar o tubo, pois o material das rolhas pode interferir com o resultado. A amostra de plasma ou soro deve estar protegida da luz quando se trata de dosar pigmentos biliares (bilirrubina). Se existe o interesse de medir os valores do perfil lipídico (ácidos graxos não esterificados, colesterol,  $\beta$ -hidroxibutirato, triglicerídeos, lipídios totais), sua determinação deve ser feita no soro, e não no plasma. Para a determinação de glicose, é possível refrigerar imediatamente a amostra de sangue completa com heparina, para ser analisada nas 3 h seguintes a coleta. Quando uma amostra está hemolisada os valores podem apresentar-se alterados, geralmente aumentados.

### *Determinações de hematologia*

Na análise do hemograma não importa o vaso sanguíneo selecionado para realizar a obtenção da amostra, uma vez que não existem diferenças significativas nas concentrações dos componentes sanguíneos que são medidos. O anticoagulante para este estudo é o EDTA, pois é o que preserva melhor as células sanguíneas, além de não interferir com os corantes hematológicos. O EDTA deve ser utilizado na proporção de 10-20 mg ou 2 gotas de uma solução a 10% para cada 10 mL de sangue, lembrando que o excesso pode alterar os resultados. Se for utilizado o sistema *vacutainer*, é importante encher o tubo na capacidade que marca o fabricante, pois o anticoagulante está dosado para o volume máximo de cada tubo. Em nenhum caso pode ser dispensada uma mistura perfeita do sangue com o anticoagulante.

Assim que a amostra é coletada, pode ser conservada durante 4 h a temperatura ambiente (15-25°C). Também é possível refrigerar a amostra para ser processada dentro das 24 h posteriores a coleta, porém esperando pelo menos 15 minutos depois de feita a coleta em temperatura ambiente antes de ser refrigerada, para evitar que ocorra hemólise. Depois de 24 h de coletada, começam a ocorrer mudanças significativas na amostra.

Para a análise do hemograma são suficientes 3 mL de sangue. Nos casos de realizar somente a técnica do hematócrito ou a medição de proteínas e fibrinogênio, se o processamento se realiza durante a primeira hora após a coleta, pode ser usada heparina como anticoagulante. Quando existe interesse de observar hemoparasitas (*Babesia* spp., *Anaplasma* spp.) recomenda-se preparar o esfregaço em uma lâmina imediatamente depois de retirada a amostra. Se isto não for possível, é necessário preparar o esfregaço nas seguintes 6 h após a obtenção da amostra como máximo, a fim de não ter resultados falsos negativos, pois nessa condição os parasitas não serão observados nas células. A amostra ideal, nesses casos, é obtida de vasos periféricos devido a que em ocasiões isto ajuda na diferenciação de espécies, como no caso de *Babesia bigemina* e *B. bovis*. Para as provas de coagulação, recomenda-se coletar com citrato.

### *Determinação do estado ácido-básico*

Este tipo de análise requer um manejo muito preciso das amostras. Os passos para fazer uma adequada coleta são descritos a seguir: (1) carregar uma seringa limpa de 1-3 mL de capacidade com uma solução de heparina a 1% (1000 UI/mL), permitindo que as

paredes fiquem umedecidas; (2) voltar a heparina, de forma suave, a seu recipiente. A quantidade de heparina aderida às paredes da seringa é suficiente para a conservação da amostra; (3) trocar a agulha usada nos passos anteriores por uma limpa e seca; (4) fazer pressão sobre a veia no máximo por 30 segundos, para não alterar os resultados; (5) obter o sangue sem fazer vácuo violento e evitando a formação de bolhas e/ou espuma na amostra; é suficiente 1 mL de sangue; (6) rapidamente proceder à eliminação das bolhas na seringa e observar que saia uma gota de sangue na ponta da agulha; (7) tampar a ponta da agulha com massa (não é suficiente dobrar a agulha); (8) depositar imediatamente a seringa em um recipiente de água com gelo (0-4°C), para bloquear o processo da glicólise; (9) enviar ao laboratório. A determinação deve ser feita nas primeiras 3 h posteriores à coleta da amostra. Em ocasiões, é possível analisar o sangue de bovinos durante as 24 h seguintes, usando tabelas de correção, para o que é importante indicar a hora de coleta da amostra.

### **Coleta e análise de líquido ruminal e urina**

Na maioria dos transtornos ruminais e metabólicos, as alterações iniciais podem ser detectadas no líquido ruminal, na urina e no leite, pois nestas alterações as mudanças nos valores de referência são significativamente mais evidentes nesses líquidos do que no próprio sangue. Durante as doenças subclínicas, os desvios dos valores normais no sangue são muito pequenos devido aos mecanismos de homeostase. Por isso, é muito importante o diagnóstico mediante exames de laboratório simples no líquido ruminal e na urina, que possam ser realizados em condições de campo. A análise do líquido ruminal e da urina pode ser realizada mediante provas e equipamentos muito mais simples e baratos, que aqueles usados comumente nas determinações específicas do sangue.

Para a obtenção e análise da amostra de líquido ruminal é necessário o seguinte material: (1) sonda ruminal com bomba de dupla via; e (2) sonda ruminal especial com capacidade de conexão na máquina de ordenha (vácuo).

O procedimento de obtenção de líquido ruminal em animais sem sinais clínicos deve ser realizado de 3 a 5 h horas depois da alimentação com concentrados ou 4 h depois da 1ª alimentação com dieta integral. Para a determinação do pH da amostra, é necessário considerar que ao extrair o líquido ruminal por sucção mediante sondagem ruminal, existe o risco de contaminação com saliva e, portanto, de aumento do valor do pH. Por isso, se

recomenda eliminar os primeiros 100 a 200 mL de líquido ruminal, para depois coletar a amostra.

### *Exame do líquido ruminal*

Em condições de campo ou de estábulo, imediatamente após a sua obtenção, devem ser avaliados os seguintes parâmetros (Tabela 1):

1) Cor: a coloração normal do líquido ruminal pode variar de forma normal desde o verde oliva, o verde marrom até o verde cinzento, de acordo com o tipo de alimentação que o animal receba. Dentro das anormalidades na coloração podem ser encontradas as seguintes: cor leitoso-cinza na acidose ruminal; cor verde escuro na alcalose ruminal ou na putrefação ruminal.

2) Cheiro: o normal do líquido ruminal pode definir-se como “aromático, não repulsivo”. Entretanto, cheiros anormais perceptíveis são o ácido-picante na acidose ruminal, ou o pútrido-amoniaco na putrefação do conteúdo ruminal.

3) Consistência (viscosidade): a consistência normal é levemente viscosa, enquanto que a consistência aquosa sugere acidose ruminal aguda.

4) Sedimentação e flutuação: a prova consiste em deixar em repouso uma amostra de líquido ruminal e medir o tempo em que aparecerem os eventos de sedimentação-flutuação. O tempo normal esperado para isto é de 4 a 8 minutos, enquanto que a ausência de um desses eventos ou a modificação deste valor poderá ser considerada como anormalidade (por exemplo, ausência de flutuação na acidose ou na indigestão simples).

5) Determinação do pH: esta determinação pode ser obtida mediante potenciômetro portátil, esperando que o valor registrado se encontre dentro do intervalo de pH de 6,0 a 7,0 (6,4 a 7,0 em dietas ricas em fibra e 6,0 a 6,6 em dietas de alto conteúdo de concentrado). Os valores obtidos fora desse intervalo, para cima ou para baixo, são considerados como patológicos: assim, pH 3,8 a 5,0 presente na acidose aguda; pH 5,1 a 5,9 presente na acidose ruminal subaguda; pH 7,3 a 8,5 na alcalose ruminal.

6) Determinação da atividade redutiva bacteriana: para esta prova adicionam-se 0,5 mL de azul de metileno solução 0,03% em uma amostra de 10 mL de líquido ruminal imediatamente após a sua coleta e se compara com outra amostra de líquido ruminal testemunha (sem o corante) do mesmo animal. Mede-se o tempo transcorrido desde a

adição do colorante até a degradação do mesmo dentro da amostra, até ficar igual com a amostra testemunha. Os tempos são interpretados assim: microflora normal: 3 a 6 minutos; indigestão simples: mais de 8 minutos e acidose aguda: mais de 30 minutos.

7) Avaliação de protozoários: as características mais importantes a avaliar são a densidade de população e a intensidade de movimentos destes micro-organismos, pois por seu tamanho podem ser observados, inclusive ao olho nu, em uma amostra recém coletada. A observação poderá ser feita de forma direta em um tubo de vidro ou em uma gota de líquido em uma lâmina com lamínula sob o microscópio óptico com aumento de 100x.

Tabela 1. Valores de referência de parâmetros do líquido ruminal em bovinos leiteiros

<b>Parâmetro</b>	<b>Intervalo</b>
pH	6,0 a 7,0
Atividade redutiva	3 a 6 minutos
Amônia (NH <sub>3</sub> )	6,0 a 17,5 mmol/L
Ácidos graxos voláteis totais	80 a 120 mmol/L
Ácido acético	55 a 65%
Ácido propiônico	15 a 25%
Ácido butírico	10 a 15%
Ácido láctico	0 a 3,3 mmol/L
Cloro (Cl)	15 a 25 mmol/L
Protozoários	2-4 x 10 <sup>8</sup> /L

#### *Obtenção e análise de amostras de urina*

A análise da urina é considerada uma ferramenta básica muito importante para o médico veterinário no diagnóstico, especialmente dos transtornos que ocorrem de forma subclínica (acetonemia, acidose ruminal), bem como para o estabelecimento de prognóstico em muitos deles. Para a coleta de amostra de urina em vacas é necessário manter preso o animal e lavar e desinfetar a região perianal. Após desinfecção da região, o operador localiza com o dedo indicador o “fundo de saco” do divertículo suburetral e depois, retraíndo levemente o dedo, se encontra o meato urinário, localizado entre 0,5 a 1,0 cm do final do divertículo. Depois, se levanta com o mesmo dedo a prega que cobre o divertículo, enquanto se introduz um cateter estéril, o qual deve passar pelo lado do dedo indicador em direção crânio-ventral. Se a bexiga estiver cheia, a urina sairá imediatamente pelo cateter. Do contrário, será necessário mexer suavemente o cateter no interior da bexiga urinária ou então poderá introduzir-se ar mediante uma seringa limpa

e estéril para criar a distensão da bexiga de forma que a urina saia quando aquela se retrair. Não funcionando este procedimento, poderá supor que o animal teve micção recente e sugere-se tentar de novo o procedimento 20 minutos mais tarde.

Na urinálise devem ser considerados os seguintes parâmetros:

1) Cor: em uma amostra normal, a coloração da urina é amarela clara a escura leve. A urina incolor-aquosa é indicativo de excreção aumentada (poliúria), ingestão aumentada de água, acetonemia ou insuficiência renal grave. Cor amarela ouro indica redução da diurese como ocorre em doença febril ou em transtornos gerais graves. Cor vermelha-marrom a vermelha-escura corresponde a presença de sangue ou hemoglobina. Uma forma prática de distinguir estas duas alterações é deixar a amostra em repouso durante 15 minutos. Se passado esse tempo se observa um sedimento vermelho, existe hematúria, ou seja, hemácias na urina; se não existe a formação do sedimento, se determina que existe hemoglobinúria. Adicionalmente, na hematúria se observa turbidez, enquanto que na hemoglobinúria o aspecto é transparente e a cor frequentemente é parecida com o vinho tinto. Podem estar presentes as duas alterações.

2) Viscosidade: normalmente é líquido-aquosa. Em processos pielonefríticos pode adquirir consistência mucosa pela presença de muco ou pus.

3) Transparência: normalmente é clara.

4) Cheiro: normalmente se caracteriza por ser levemente aromático. O cheiro adocicado é frequente na acetonemia, enquanto que o aroma amoniacal pode assinalar a presença de infecção bacteriana.

5) pH: o pH normal da urina pode chegar a variar dentro do intervalo de 7,7 a 8,4, medido com potenciômetro ou com fitas reagentes. Alterações possíveis são: pH baixo na acidose e, normalmente, nos terneiros (pH 5,0 a 6,0); pH elevado na alcalose, pielonefrite e cistite.

6) Proteínas: na urina normal, as proteínas deverão estar ausentes embora em algumas circunstâncias podem aparecer em quantidades muito baixas (até 10 mg/L). Se a determinação é pela prova de precipitação com ácido sulfosalicílico não deverão ser detectadas na amostra. O fundamento dessa prova, é que existindo proteína na urina, haverá precipitação ao entrar em contato com o ácido. O procedimento consiste no seguinte: colocar 5 mL de urina em um tubo de ensaio limpo e adicionar 1mL de ácido sulfosalicílico a 20%, misturar por agitação e depois estimar a quantidade de proteínas pelo grau de turbidez da mescla. Com o propósito de poder avaliar a mudança, é útil

colocar qualquer marca escrita (letras) na parte posterior do tubo e observar a través do tubo problema, comparando também com uma amostra testemunha sem reagente do próprio animal. O critério de leitura é o seguinte:

<b>Resultado</b>	<b>Significado</b>
negativo	não há turbidez
+	turbidez leve (a letra é legível)
++	turbidez moderada (a letra é ilegível)
+++	precipitação (suspensão)
++++	coagulação imediata

A presença de proteína na urina é um evento frequentemente associado a qualquer processo inflamatório ou a nefrose. Algumas das interpretações das possíveis mudanças com relação à presença de proteínas na urina são as seguintes:

<b>Resultado</b>	<b>Significado</b>
+	reticuloperitonite traumática localizada crônica
++	reticuloperitonite traumática localizada aguda
+++	hepatite e esplenite traumática
++++	peritonite difusa
urina turva	nefrite, pielonefrite
não turva	nefrose

Devido a que a urina normal do bovino é alcalina, no caso de fazer determinações de proteína mediante fitas reativas (Multistix, Labstix, Combur-test), é frequente o aparecimento de reações falso-positivas. A proteinúria pode ser fisiológica em terneiros com 1-36 h de nascidos. A proteinúria pré-renal é observada na hemoglobinemia e na hemoglobinúria. Proteinúria renal ocorre em nefrose, nefrite e pielonefrite e a proteinúria pós-renal na cistite, na uretrite e na urolitíase.

7) **Corpos cetônicos:** na urina normal não existem corpos cetônicos e, se existirem, deverá ser de forma insignificante (< 7 mg/mL). Provas para detectar corpos cetônicos incluem: (i) fitas reativas (Multistix, Ketostix, Labstix e Combur-test): é uma prova sensível e específica para o ácido acetoacético (reação positiva rosa a púrpura); (ii) tabletes reagentes Acetest; (iii) prova de Lestradet; (iv) prova de Rothera. Alguns dos transtornos que podem cursar com cetonúria são: cetose das vacas, doenças associadas com o catabolismo (mastite, metrite) e deslocamento de abomaso.

8) **Sangue:** existem no mercado fitas reagentes comerciais que permitem esta determinação. A presença de hematúria ou de hemoglobinúria é um achado comum em alterações tanto locais como sistêmicas: assim, hematúria é observada em pielonefrite, nefrite embólica, urolitíase e hematúria vesical crônica. A hemoglobinúria observa-se na

hemoglobinúria pós-parto, babesiose, hemoglobinúria bacilar, leptospirose e na intoxicação crônica por cobre.

### **Sistema de diagnóstico dos transtornos metabólicos no bovino**

Nos ruminantes, especialmente nos bovinos, os transtornos digestivos que ocorrem no rúmen e as doenças metabólicas são fenômenos que se apresentam com muita frequência. A maioria das alterações metabólicas ocorre em forma subclínica sem que o animal manifeste sintomatologia. Durante as doenças metabólicas subclínicas os animais podem diminuir de 10 a 30% sua produção, embora, em aparência mostrem bom estado de saúde, sem que o proprietário ou o médico veterinário note qualquer anormalidade. Na maioria dos transtornos ruminais e metabólicos, as alterações bioquímicas iniciais podem ser detectadas no líquido ruminal, na urina e no leite. Estas alterações ou mudanças bioquímicas são maiores na urina e no líquido ruminal do que no sangue. Por isto, mediante exames de laboratório simples no líquido ruminal e na urina, que podem ser realizados em condições de campo, é possível precisar o diagnóstico.

A análise do líquido ruminal e da urina pode ser realizada mediante provas e equipamentos mais simples e baratos do que aqueles utilizados comumente nas determinações específicas do sangue. A detecção dos transtornos ruminais e metabólicos em forma subclínica tem que respeitar a metodologia descrita no sistema preventivo de diagnóstico de doenças metabólicas ou de doenças de alta produção. Sugere-se monitorar vacas em épocas de risco de apresentar problemas, fazendo o exame em 5 ou 6 animais que se encontrem em cada um dos seguintes estágios: (a) entre 1 a 8 semanas após o parto e (b) de 2 a 3 semanas antes do parto. Este monitoramento compreende os componentes:

- 1) História clínica: avaliação da ração alimentar, o nível de produção, os indicadores médico-clínicos como morbidade e mortalidade, os parâmetros reprodutivos e a qualidade do leite.
- 2) Exame físico dos animais: com ênfase na avaliação da condição corporal, especialmente nas vacas de alta produção entre a 1<sup>a</sup> e a 8<sup>a</sup> semanas após o parto e nas vacas com 2 a 3 semanas antes do parto.
- 3) Exame do líquido ruminal, a urina e o leite em condições de campo. No líquido ruminal observar: exame organoléptico (cor, cheiro, viscosidade, sedimentação, flutuação); determinação do pH; atividade redutiva da microflora (prova de óxido-redução com azul



de metileno); avaliação de movimento dos protozoários ou contagem da população de protozoários (não necessário para todos os casos). No exame de urina observar: exame organoléptico (cor, cheiro e aspecto); determinação do pH; determinação de proteínas (prova com ácido sulfosalicílico); presença de corpos cetônicos (fitas reagentes); determinação de bilirrubina e urobilinogênio (fitas reagentes); determinação de hemoglobina e sangue (fitas reagentes). No exame de leite observar: exame organoléptico; prova de Califórnia (CMT) para mastite.

4) Análise de laboratório: posterior à análise de campo, quando necessário, são coletadas amostras de sangue e urina de 15 vacas (5 vacas cada grupo), assim: (i) vacas entre 1 a 8 semanas depois do parto; (ii) vacas de produção média, entre 3 a 5 meses depois do parto; (iii) vacas entre 2 a 3 semanas antes do parto. As análises compreendem:

- a. Sangue: hematócrito, fibrinogênio, leucócitos diferencial e outros parâmetros hemáticos, estado ácido-básico (pH, pCO<sub>2</sub>, excesso de base)
- b. Plasma: ureia, ácidos graxos livres, beta-hidroxiacetato, AST, CK, minerais (P, Ca, Mg, Na, Cu, Zn, Se), proteínas totais, albumina, glicose
- c. Urina: pH, corpos cetônicos, hemoglobina/sangue, bilirrubina, minerais (Na), densidade
- d. Leite: gordura, proteínas, contagem celular e exame bacteriológico
- e. Tecidos: prova de flutuação para esteatose no fígado e cinzas no osso.

5) Exame patológico com material de abatedouro: com base neste exame simples podem ser detectadas doenças no rebanho.

6) Interpretação dos resultados

7) Diagnóstico

8) Tratamento e prevenção

### **Interpretação dos perfis de laboratório em bovinos**

Os transtornos metabólicos, ruminais e outras doenças se caracterizam primeiro por alterações bioquímicas nos líquidos corporais (urina, líquido ruminal, leite, sangue) e mais tarde por problemas reprodutivos e diminuição da produção. Particularmente, os transtornos metabólicos e digestivos se apresentam em bovinos com muita frequência em

forma subclínica e podem diminuir a produção em 10 a 25%, embora em aparência mostrem bom estado de saúde. Embora não muito utilizadas as análises bioquímicas e o hemograma para o diagnóstico de doenças ou transtornos metabólicos nos bovinos, nos últimos anos, na disciplina de patologia clínica tem havido muito progresso e aquisição de novos conhecimentos. O diagnóstico em grandes animais está direcionado a medicina de população. Para melhorar e simplificar o diagnóstico das doenças em bovinos são oferecidas ao médico veterinário que trabalha na prática, uma série de provas de diagnóstico efetivo no laboratório na forma de perfis.

Os perfis metabólicos são utilizados em países da Europa, bem como nos Estados Unidos e Canadá, desde os anos 1970, tendo contínua melhoria e otimização. São usados como procedimento de monitoramento rotineiro para o diagnóstico de transtornos metabólicos, deficiências derivadas da nutrição e como preventivo de transtornos subclínicos, além da pesquisa de problemas de saúde e de desempenho de um rebanho. Os perfis mais relacionados com a história clínica, a análise da produção (registros) e o exame físico dos animais são contemplados na Tabela 2.

Tabela 2. Perfis mais usados na clínica bovina

<b>Perfil metabólico geral</b>	<b>Perfil hepático / nutricional</b>	<b>Perfil básico individual</b>	<b>Perfil mineral / fertilidade</b>
Ureia	Ureia	Glicose	Ureia
Proteínas totais	Proteínas totais	Ureia	Proteínas totais
Albumina	Albumina	AST	Albumina
Globulinas	Globulinas	GGT	Fósforo inorgânico
Relação A/G	Relação A/G	CK	Magnésio
Cálcio	AST	Proteínas totais	Cobre
Fósforo inorgânico	GGT	Albumina	Glutation-Px
Ca/P	$\beta$ -hidroxibutirato	Globulinas	Zinco
Magnésio	Ácidos graxos livres	Relação A/G	$\beta$ -hidroxibutirato
AST		Cálcio	
GGT		Fósforo inorgânico	
Cobre		Relação Ca/P	
Glutation-peroxidase		Magnésio	
Zinco		Potássio	
$\beta$ -hidroxibutirato		Sódio	
Ácidos graxos livres		Cloro	
Hemograma		Gasometria	
Urinalise		Hemograma	
Líquido ruminal		Urinalise	

### *Interpretação dos metabólitos mais importantes*

**β-hidroxibutirato (BHB):** É um corpo cetônico que aumenta no plasma dos animais quando existe deficiência de energia. O nível ótimo para vacas em lactação é de  $\leq 1,0$  mmol/L e em vacas secas de  $\leq 0,6$  mmol/L.

**Ácidos graxos livres:** Também chamados ácidos graxos não esterificados (AGL ou NEFA), medem a mobilização de gordura (lipomobilização) e sua determinação é importante em vacas secas e depois do parto. Os valores de referência para vacas lactantes são de  $\leq 0,7$  mmol/L e em vacas antes do parto de  $\leq 0,4$  mmol/L.

**Glicose:** A sua concentração no plasma bovino não é tão bom indicador do balanço energético quanto o de BHB ou de AGL.

**Ureia:** É um bom indicador das proteínas na dieta e seu balanço com glicídeos fermentáveis. O valor ótimo de ureia plasmática é de 15-40 mg/dL. A avaliação do nitrogênio ureico fornece exatamente a mesma informação, porém tendo cuidado na interpretação dos valores, que neste caso são de 8 a 18 mg/dL.

**Albumina:** Esta proteína é sintetizada no fígado, sendo que a diminuição na sua concentração plasmática reflete condições de insuficiência hepática ou pobre fornecimento de aminoácidos na dieta. Seus valores referenciais são de 30 a 42 g/L. A diferença entre as proteínas totais e a albumina indicam a concentração de globulinas, a qual é de 35 a 50 g/L. A causa mais comum de aumento de globulinas é a inflamação crônica (mastite, metrite, laminite).

**Fósforo inorgânico:** Os níveis plasmáticos ideais são de 5,0-7,0 mg/dL. Sua concentração indica o ingresso de P na dieta ou deficiências deste elemento.

**Magnésio:** A concentração ótima no plasma é de 1,9-2,6 mg/dL. Também indica consumo apropriado ou deficiente do elemento na dieta.

**Cobre:** O plasma deve ter de 70-120  $\mu\text{g/dL}$ . A deficiência pode ser devida a alimentos pobres em Cu ou então a excesso de molibdênio.

**Glutation-peroxidase (GPx):** Esta enzima serve para avaliar indiretamente o consumo adequado ou deficiente de selênio na dieta nos 2 meses anteriores à coleta. É uma enzima antioxidante. Os efeitos mais comuns da deficiência de Se são retenção placentária, distrofia muscular, baixa fertilidade e alta mortalidade de terneiros neonatos.

Zinco: Seus valores ótimos no plasma são de 80-240 µg/dl. A deficiência deste elemento se manifesta principalmente como diminuição na imunidade dos animais.

Além dos metabólitos descritos, os estudos se complementam com a análise do líquido ruminal, a urina e outras determinações sanguíneas como hemograma, cálcio, atividades de AST e GGT, bilirrubina, Na, K, Cl e análise de pH e gases sanguíneos. No caso de terneiros neonatos, também podem ser determinadas as gamaglobulinas ou as imunoglobulinas séricas.

### **Diagnóstico de indigestão simples, alcalose ruminal e intoxicação por ureia**

#### *Indigestão simples*

Este transtorno é causado por um deficiente fornecimento de glicídeos e proteínas facilmente fermentáveis, ou por um excesso de fibra de má qualidade (palha). Também se apresenta quando existe um aporte insuficiente ou proporções inadequadas de macro e microelementos, por uma inibição da microflora ruminal como no caso de antibioticoterapia e, em geral, pela oferta de alimentos de má qualidade, mofados ou putrefatos. A patogenia deste problema ocorre quando as causas descritas provocam uma diminuição da quantidade de bactérias e protozoários no líquido ruminal e, com isto, uma diminuição da atividade reductiva da flora ruminal, detectada na prova com azul de metileno, observando-se aumento do tempo da prova. Como consequência, existe uma diminuição na formação de ácidos graxos voláteis no rúmen e um leve aumento no pH ruminal (6,8 a 7,2).

Os sinais clínicos mais típicos durante a indigestão simples são: leve anorexia, diminuição da motilidade ruminal, timpanismo, queda na produção de leite e alteração de sua composição (diminuem gordura e proteínas). Se o problema persistir por vários dias o estado geral dos animais se deteriora ocorrendo alopecia e anemia. Como em qualquer problema, no diagnóstico deve ser levada em conta a anamnese, incluindo os dados relevantes da história clínica, o exame físico completo e a complementação com provas de líquido ruminal e urina.

As observações no líquido ruminal neste problema incluem as seguintes:

Cor:	marrom-verde	pH:	6,8 – 7,2
Cheiro:	mofado	Atividade reductiva:	> 8 minutos
Viscosidade:	aquosa	Protozoários:	diminuídos
Sedimentação:	diminuída	Ácidos graxos voláteis:	diminuídos (propiónico)
Flutuação:	aumentada		

Na urina, observa-se pH de 7,0 a 7,5 e, ocasionalmente, corpos cetônicos. No diagnóstico diferencial, esta doença deve distinguir-se de cetose, doenças parasitárias, acidose ruminal crônica, alcalose ruminal e deficiências de minerais. A indigestão simples pode apresentar-se como consequência secundária a outras doenças que causem anorexia/hiporexia, como por exemplo mastite e reticulo-pericardite traumática. Nesses casos, apresentam-se dor, proteinúria e, ocasionalmente, febre.

O tratamento está baseado na correção da dieta, equilibrando adequadamente glicídeos digeríveis, proteína, fibra e macro e microelementos. Sugere-se administrar propionato de sódio (90 g/vaca/ dia por 3 dias), aplicar 5 L de líquido ruminal de uma vaca sadia como fonte de microflora e monitorar o pH ruminal e complementar com 500 g de melação e 100-200 g de levedura/vaca/dia. A prevenção deve basear-se em fornecer dietas bem balanceadas com nutrientes de boa qualidade e de acordo a cada etapa de produção. No caso de indigestões secundárias, é necessário corrigir a causa primária do problema.

#### *Alcalose ruminal*

A alcalose ruminal é uma disfunção digestiva originada por desequilíbrio na dieta, determinando um aumento na concentração de radicais  $\text{NH}_3$  no rúmen, incremento do pH ruminal e uma alcalose em nível sistêmico. Entre as causas principais desta alteração estão: (i) fornecimento de alimentos com alto conteúdo de substâncias nitrogenadas, como proteína e ureia; (ii) aporte deficiente de glicídeos e simultâneo fornecimento de substâncias nitrogenadas; (iii) alto conteúdo de nitratos e nitritos em algum componente da dieta; (iv) aplicação de grandes quantidades de substâncias alcalinizantes, como  $\text{NaHCO}_3$  e  $\text{MgO}$ ; (v) consumo de alimentos contaminados com terra; e (vi) intoxicação com ureia.

A patogenia desta alteração inicia-se com o excesso no consumo de substâncias nitrogenadas ou compostos alcalinizantes, o que gera a produção excessiva de  $\text{NH}_3$ , a qual ao não ser utilizada apropriadamente, acumula-se, aumentando o pH ruminal. Nestas

condições, os protozoários diminuem e desencadeia-se uma alcalose metabólica com a consequente diminuição do cálcio ionizável no sangue. Os sinais clínicos incluem anorexia em diferentes graus, diminuição da ruminação e da motilidade ruminal, hipersalivação, diminuição da produção leiteira, alterações reprodutivas, diminuição na qualidade do sêmen, diminuição na vitalidade de terneiros nascidos de vacas com alcalose ruminal, timpanismo residual leve, tremores e espasmos causados pela hipocalcemia e síndrome da vaca caída, nos casos graves.

O diagnóstico deve estar integrado pela anamnese adequada, incluída uma revisão da história clínica, o exame físico completo e a análise de líquido ruminal, urina e leite. Os achados no líquido ruminal incluem os seguintes:

Cor:	marrom-verde	pH:	7,2 – 8,0 casos agudos
Cheiro:	amoniacoal		7,2 – 7,5 casos subclínicos
Viscosidade:	aumentada	Atividade reductiva:	> 10 minutos
Sedimentação:	retardada	Protozoários:	diminuídos
Flutuação:	retardada ou variável	Ácidos graxos voláteis:	propiónico diminuído, butírico aumentado

Os achados na urina incluem:

pH:	7,0 – 7,5	por excesso de substâncias nitrogenadas (corpos cetônicos ocasionais).
	8,5 – 9,0	por excesso de compostos alcalinizantes

No leite observa-se:

Acidez:	diminuída	Ureia:	aumentada
Proteínas e lactose:	diminuídas	Celularidade:	aumentada

O diagnóstico diferencial envolve as seguintes provas discriminatórias: com acidose ruminal e indigestão simples, pH ruminal menor que na alcalose e não há aumento de NH<sub>3</sub>; com cetose há cetonúria e o pH ruminal não é alcalino; e com paresia obstétrica, não há alterações no líquido ruminal.

O tratamento da alcalose ruminal deve considerar:

(a) Casos leves: é necessário acidificar o meio ruminal ao tempo que é corrigida a dieta. A neutralização ruminal se realiza aplicando 1 a 2 L de ácido acético a 8% (concentração aproximada do vinagre comercial). Outros acidificantes são: 70 mL de ácido láctico em 5 litros de água, ou 70 mL de ácido fôrmico em 5 litros de água. A neutralização é acompanhada de uma massagem forte sobre o rúmen e deve monitorar o pH ruminal após o tratamento. Também se devem administrar 5 L de líquido ruminal de uma vaca sadia e

aplicar 100 g de propionato de sódio por dia direto no rúmen durante 2 a 3 dias. Utilizar infusões de linhaça ou camomila e propionato de sódio como protetores da mucosa ruminal.

(b) Casos graves: além da terapia antes descrita, deverão ser feitas lavagens ruminais no início e fornecer a seguinte terapia sistêmica: soluções acidificantes, entre 6 a 9 L de uma mescla de duas partes de NaCl 0,9% e uma parte de KCl 1,1%, de acordo ao grau de hidratação; soluções de glicose e NaCl 0,9% com tiamina, via endovenosa; soluções de cálcio e magnésio via endovenosa; administrar 40 g de MgCl<sub>2</sub> por via oral ao dia durante os dias da terapia; aplicar antibióticos via parenteral e utilizar infusões de linhaça ou camomila mais propionato de sódio.

A prevenção se fundamenta em oferecer alimentos balanceados com níveis adequados de proteínas, substâncias nitrogenadas e compostos alcalinizantes. No caso de utilização de ureia, deve permitir uma adaptação gradual dos animais.

#### *Intoxicação com ureia*

Esta alteração apresenta-se principalmente de forma aguda, sendo causada quando os animais recebem grandes quantidades de ureia ou sais de amônia sem permitir uma adaptação adequada dos animais para aproveitar estas fontes de nitrogênio, ou quando são ultrapassados os limites para a sua utilização. O problema é favorecido quando não se fornecem suficientes glicídeos de fácil digestão. É frequente que se apresente como acidente por inadequada mistura dos alimentos ou quando se jogam fertilizantes que fiquem de fácil acesso aos animais. Uma vaca pode chegar a morrer em pouco tempo ao consumir 100 a 200 g de ureia quando não está adaptada. A patogenia neste caso caracteriza-se por uma acumulação de NH<sub>3</sub> e CO<sub>2</sub> como produtos da hidrólise da ureia por parte das bactérias ruminais. O excesso de NH<sub>3</sub> alcaliniza o meio ruminal e ambos gases são absorvidos através da mucosa ruminal causando uma intoxicação sistêmica.

Os animais apresentam sinais clínicos que se manifestam entre 30 a 60 minutos depois do consumo da ureia e caracterizam-se por tremores musculares, salivação, respiração acelerada, atonia ruminal, apatia, ataxia e sudoração. Em casos mais complicados há também dispneia marcada, timpanismo, espasmos clônico-tônicos, prostração do animal e extensão de extremidades. A frequência cardíaca está aumentada (100-160 bat/min), há regurgitação e morte entre 45 a 120 minutos depois da ingestão. O

diagnóstico deve incluir a anamnese e um exame físico dos animais considerando os sinais antes descritos. O pH ruminal pode chegar a 8,0 havendo um forte cheiro amoniacal.

A terapia deve incluir um rápido lavado ruminal, com aplicação de líquido ruminal de uma vaca sadia, aplicação de acidificantes (vinagre ou ácidos como descrito na alcalose ruminal), e aplicação endovenosa de 300 mL de ácido acético a 1%, 500 mL de glicose a 20% e sais de Ca e Mg. A prevenção inclui um adequado programa de adaptação dos animais a consumir ureia mesclada perfeitamente aos alimentos e tomar as precauções devidas quando se usa ureia como fertilizante. Recomenda-se ter sempre reservas de vinagre a disposição.

### **Diagnóstico e terapia da acidose ruminal aguda**

A acidose ruminal aguda é uma doença dos bovinos, especialmente daqueles submetidos a alimentação com grandes quantidades de carboidratos, sobretudo daqueles altamente digeríveis (grãos, melão, beterraba açucareira, batata, maçã). Também é conhecida como acidose láctica, indigestão por sobrecarga de grãos e sobrecarga ruminal.

No caso da alimentação rica em carboidratos, existe uma proliferação de microorganismos Gram-positivos como estreptococos e lactobacilos, os quais promovem uma fermentação até ácido láctico. Apresenta-se uma diminuição no pH ruminal que pode chegar a ser de 3,8 a 5,0. Esta mudança provoca também a eliminação dos protozoários, que não sobrevivem em pH menor que 5,0. Apresenta-se uma redução na produção de ácidos graxos voláteis no líquido ruminal, provocando estase ruminal e aumento na produção de histamina com aparecimento de diarreia e desidratação. Também se desenvolve uma acidose metabólica grave que pode ser detectada no sangue. O quadro provoca a aparição de rumenite, ulceração ruminal e laminite.

A apresentação dos sinais clínicos é evidente aproximadamente entre 12 a 24 h depois da ingestão da fonte de glicídeos. São eles: anorexia, diminuição abrupta na quantidade de leite, bem como no conteúdo de gordura do leite, diminuição ou ausência de movimentos ruminais, frequência cardíaca de 90 a 140 bat/ min e temperatura corporal de 36,9 a 39,5°C, apatia e tremores musculares, ranger de dentes, cólicas e timpanismo em 20% dos animais afetados, diarreia e desidratação, aumento de líquido no rúmen, incoordenação ao caminhar, e prostração dos animais (similar a paresia obstétrica).



No diagnóstico é da maior importância considerar a história clínica do animal e realizar um exame físico completo, além de realizar provas de campo em líquido ruminal e urina, bem como provas de laboratório no sangue. Os seguintes são achados nas provas realizadas no caso da acidose ruminal aguda:

- No líquido ruminal:

Cor	leitoso, amarelado, acinzentado
Cheiro	ácido
Viscosidade	no início viscoso, depois aquoso
Sedimentação	ausente
Flutuação	ausente
pH	3,8 - 5,0
Atividade redutiva	prolongada ou ausente (más de 25 minutos)
Protozoários	ausentes
Ácidos graxos voláteis	diminuídos (ácido láctico elevado)

- Na urina:

pH	5,5 - 7,0
Densidade	aumentada
Proteínas	presentes

- No sangue:

Gasometria	pH = 7,0 a 7,2; EB = -10 a -20 mmol/L
Hematócrito	elevado
Hemoglobina	elevada
Proteínas	elevadas
Ureia plasmática	elevada
Cálcio plasmático	diminuído

Um achado comum na necropsia é a presença de rumenite. No diagnóstico diferencial, considerar que na paresia obstétrica não há mudanças no líquido ruminal, na urina, e nem nas provas de campo. Na alcalose ruminal, o pH ruminal está aumentado, e a cor do líquido é verde-pardo. Na putrefação ruminal, o cheiro do líquido é pútrido e o pH está aumentado. Na mastite aguda, não há alterações no líquido ruminal e há febre. Na peritonite difusa, a proteinúria é muito marcada. Na septicemia, há febre elevada e não há mudanças no líquido ruminal. Na hipomagnesemia, inicialmente não há anorexia

e não há mudanças no rúmen e na esteatose hepática se observa também cetonemia e cetonúria, além de enzimas hepáticas aumentadas no plasma.

No tratamento da acidose ruminal aguda é necessário administrar tanto terapia ruminal como sistêmica, as quais estão baseadas na correção da acidose ruminal, na diminuição do ácido láctico, na aplicação de líquidos e eletrólitos, no aporte de feno de boa qualidade como alimento e, por fim, no restabelecimento dos movimentos ruminais e das condições do rúmen. Nos casos de acidose ruminal leve (com pouco tempo transcorrido após a ingestão dos carboidratos) é importante corrigir a acidez ruminal mediante lavados. Deve-se retirar o alimento rico em carboidratos, limitar o acesso de água nas seguintes 12 a 24 horas, alimentar os animais com feno de boa qualidade por alguns dias (3 ou 4), e obrigar os animais a se movimentarem para favorecer a motilidade ruminal. Pode ser necessário aplicar antibióticos intra-ruminais (5 a 10 milhões de UI de penicilina), para eliminar as bactérias prejudiciais que tenham proliferado e administrar diretamente no rúmen 150 g de bicarbonato de sódio dissolvido em 5 litros de água e ao menos 5 L de líquido ruminal obtido de uma vaca sadia.

Nos casos de acidose ruminal grave (quando o pH cai para 3,8 - 4,5) deve-se aplicar uma solução de bicarbonato de sódio a 4,2% por via endovenosa, de 3 a 4 L durante 1 hora, realizar a extração do conteúdo ruminal presente e fazer lavagens ruminais com água morna, administrar 100 a 150 g de bicarbonato de sódio ou 100 g de óxido de magnésio diretamente no rúmen, fornecer 500 g de levedura de cerveja ou padaria e 100 g de propionato de sódio em água quente, aplicar 5 a 10 L de líquido ruminal obtido a partir de uma vaca sadia e realizar reidratação endovenosa conforme o grau de desidratação, administrando soluções de cloreto de sódio a 0,9% ou solução Ringer; também aplicar 1 L de glicose a 20% IV e 2 a 4 g de tiamina por via intramuscular; a aplicação total é entre 6 a 20 L de soluções. A terapia vem acompanhada de antibióticos, anti-inflamatórios não esteroidais e cardiotônicos e complementar com uma dieta a base de feno por 5 dias, findando os quais deverá fazer uma mudança gradual para a alimentação normal.

Em todos os casos, o pH ruminal deve ser monitorado a cada 24 h para observar a melhora. Se o pH se mantiver abaixo de 5,8 serão necessárias mais aplicações de bicarbonato de sódio (100 g), além de aplicar mais líquido ruminal de vacas sadias. Por ser esta doença uma alteração digestiva, a principal situação preventiva é o fornecimento de dietas de boa qualidade e, sobretudo bem balanceadas. Se os animais são submetidos

a alimentação com altas quantidades de carboidratos, como é o caso dos concentrados, é importante administrar 50 a 100 g de bicarbonato de sódio e 30 a 50 g de óxido de magnésio por vaca por dia.

### **Determinação de transtornos ácido-básicos**

Existe uma grande quantidade de doenças e alterações metabólicas que podem causar desbalanços no equilíbrio ácido-básico dos ruminantes. Entre as causas patológicas que originam esses desequilíbrios estão as que se relacionam com os sistemas urinário, digestivo, respiratório e endócrino, com a regulação mineral e os processos metabólicos. Este complexo homeostático dos animais refere-se à concentração de íons hidrogênio, isto é, à regulação do pH, o que é muito importante para o correto funcionamento de muitos processos biológicos como a atividade enzimática, a regulação de concentrações minerais e a adequada conformação e função das proteínas.

O organismo conta com muitos mecanismos para regular o pH do sangue e mantê-lo dentro de limites estreitos entre 7,35 e 7,45. Variações fora do intervalo de 7,0 a 7,7 são críticas para a vida do animal. Os sistemas utilizados pelo organismo para manter adequadamente o estado ácido-básico são: (1) Sistemas tamponantes: uma substância tampão é aquela que resiste a modificações na concentração de íons  $H^+$ , sendo capaz de doar ou receber íons  $H^+$  com facilidade. O principal sistema tampão no plasma sanguíneo é o constituído pelo bicarbonato e o ácido carbônico, os quais respondem à seguinte equação:  $H_2O + CO_2 \rightleftharpoons H_2CO_3 \rightleftharpoons HCO_3^- + H^+$ . A primeira reação depende da enzima anidrase carbônica. A proporção normal de bicarbonato / ácido carbônico no plasma é de 20:1. Quando existem mudanças primárias nos níveis de bicarbonato faz-se menção a um problema metabólico ou não respiratório e quando a alteração inicial é sobre a concentração de ácido carbônico, então define-se como um problema respiratório. Pensando a equação anterior como um sistema de balança, quando diminui o ácido carbônico ou aumenta o bicarbonato, aumenta o pH desenvolvendo-se um processo de alcalose, enquanto que a diminuição de bicarbonato ou o incremento de ácido carbônico geram acidose por redução do pH. (2) Função do rim por eliminação de ácidos e retenção de bicarbonato. (3) Tamponantes intracelulares: hemoglobina e fosfatos. (4) Atividade hepática ao metabolizar ácidos orgânicos em seus respectivos sais. (5) Atividade óssea durante processos de acidose, que pode absorver  $H^+$  substituindo-os por íons de cálcio.

O estudo tradicional do equilíbrio ácido-básico fundamenta-se na equação de Henderson–Hasselbalch, que relaciona diretamente as concentrações de bicarbonato e ácido carbônico no plasma sanguíneo com o pH. O excesso de base é um cálculo que apoia a identificação de acidose ou alcalose metabólicas. Uma determinação complementar alternativa à medição do bicarbonato é o CO<sub>2</sub> total (TCO<sub>2</sub>). Também, o cálculo do *anion gap* (diferença aniônica) é utilizado para classificar os desequilíbrios como a acidose metabólica devida à perda de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> ou a excesso de ácidos orgânicos, a alcalose metabólica ou a transtornos ácido-básico mistos. Um conceito alternativo de aplicação em medicina veterinária é a teoria de Stewart, que quantifica os íons fortes para identificar problemas não respiratórios. A premissa mais relevante do método de Stewart é a ideia de que as concentrações de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> e de H<sup>+</sup> dependem da concentração de variáveis independentes ou primárias: pCO<sub>2</sub>, ácidos fracos e íons fortes.

Segundo o enfoque tradicional existem 4 alterações simples em função do transtorno primário em bicarbonato ou em ácido carbônico, que são: (i) acidose metabólica: diminuição nos níveis plasmáticos de bicarbonato; (ii) alcalose metabólica: aumento nos níveis plasmáticos de bicarbonato; (iii) acidose respiratória: aumento nos níveis plasmáticos de ácido carbônico; e (iv) alcalose respiratória: diminuição nos níveis plasmáticos de ácido carbônico. Podem apresentar-se combinações destas, dando origem a alterações ácido-básico mistas.

A acidose metabólica é o problema mais frequente de desequilíbrio ácido-básico em medicina veterinária, apresentando-se quando existe uma perda de bicarbonato ou um aumento de ácidos orgânicos. Para uma identificação da acidose metabólica, podem ser mencionadas causas onde o *anion gap* é normal, pois ocorre uma acumulação de cloro como compensação, e outras onde o *anion gap* está aumentado devido a uma acumulação excessiva de ácidos orgânicos. As causas mais comuns da acidose metabólica em bovinos são as seguintes:

<i>Anion gap aumentado</i>	<i>Anion gap normal</i>
Cetose severa	Diarreia
Acidose ruminal	
Insuficiência renal aguda e crônica	
Aumento de ácidos orgânicos	
Qualquer causa de hipoperfusão tissular (desidratação, choque)	

A alcalose metabólica é determinada por um acúmulo de bicarbonato no sangue. Entre as causas comuns deste transtorno em bovinos estão: administração oral excessiva de bicarbonato de sódio, alcalose ruminal e intoxicação com ureia, administração de outros ânions orgânicos em excesso (lactato, acetato) e deslocamento de abomaso.

A acidose respiratória é devida à impossibilidade de eliminar o excesso de CO<sub>2</sub> o que causa uma acumulação de H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Existem duas circunstâncias gerais para que este fenômeno se apresente. A primeira é um bloqueio dos mecanismos respiratórios e a segunda é uma alteração direta do sistema nervoso central inibindo o centro respiratório. Entre as causas comumente observadas deste problema em bovinos estão:

<i>Bloqueio de mecanismos respiratórios</i>	<i>Inibição do centro respiratório</i>
Pneumonias	Substâncias tóxicas
Edema pulmonar	Traumatismos
Hemotórax	Infecções
Hidrotórax	Anestésicos
Obstrução de vias aéreas	
Botulismo	
Tétano	
Fármacos (organoclorados e organofosforados)	
Fratura de costela	

Quando ocorre um incremento no intercâmbio gasoso pulmonar existe perda de CO<sub>2</sub> em excesso, causando que o H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> diminua no sangue. Nestes casos, apresenta-se uma alcalose respiratória. As principais causas desse evento em bovinos são: hipoxemia, inadaptação a grandes altitudes, anemia severa, falha cardíaca congestiva, choque térmico e excitação.

Os transtornos ácido-básicos são diagnosticados em função da anamnese, o exame físico completo dos animais e a análise de amostras. Na prática bovina, recomenda-se realizar a análise em 3 níveis conforme a complexidade de cada caso, assim: 1ª fase: análise do líquido ruminal (pH e atividade redutiva) e pH da urina; 2ª fase: medição de eletrólitos, cálculo do *anion gap* e de diferença de íons fortes; 3ª fase: determinação do pH e da pCO<sub>2</sub> mediante analisador de gases sanguíneos, mesmo equipamento que calcula o excesso de base (EB) e a concentração de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> e de TCO<sub>2</sub>. O EB é uma quantificação da proporção de bases no sangue, calculada sob condições padrão de pCO<sub>2</sub> e temperatura, e que avalia mudanças metabólicas intracorporais. Em vacas, os valores de referência de EB são de 0 a 4 mmol/L e têm estreita relação com os valores de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, onde um EB de

0 mmol/L equivale a 24 mmol/L. Um valor aumentado de EB indica alcalose metabólica e um valor diminuído indica acidose metabólica.

#### *Tratamento da acidose metabólica*

A acidose metabólica apresenta-se quando há perda de bicarbonato ou aumento de ácidos orgânicos, o que faz necessário a administração de substâncias alcalinizantes. Quando é feita a análise do estado ácido-básico, é possível utilizar o valor determinado de EB para poder implementar a terapia com bicarbonato de sódio com base na seguinte fórmula:

$$\text{NaHCO}_3 \text{ (mmol/L)} = \text{peso do animal em kg} \times \text{K} \times \text{EB}$$

Onde, K equivale a 0,3 em bovinos adultos e 0,5 em bovinos jovens

1 L de NaHCO<sub>3</sub> a 8,4% contém 1.000 mmol de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>

1 L de NaHCO<sub>3</sub> a 4,2% contém 504 mmol de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>

1 L de NaHCO<sub>3</sub> a 1,3% contém 156 mmol de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>

1 g de NaHCO<sub>3</sub> contém 12 mmol de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>

Na prática bovina, a solução isotônica a 1,3% é de utilidade para tratar terneiros. Entretanto, no caso de animais adultos recomenda-se utilizar a solução a 4,2% para diminuir os volumes a aplicar. Por exemplo, considere o caso de um terneiro de 4 dias, com 45 kg de peso vivo, EB= -15 mmol/L (ao resolver a fórmula não se considera o sinal negativo de EB). A quantidade de bicarbonato a administrar é:

$$\text{NaHCO}_3 \text{ (mmol)} = 45 \times 0,3 \times 15 = 202,5$$

Feito o cálculo, é necessário administrar somente metade da dose calculada (101,25 mmol), devido a que estão presentes os mecanismos compensatórios do organismo, e, administrando toda a dose pode provocar um efeito contrário de alcalose metabólica. Assim, se um L de NaHCO<sub>3</sub> a 1,3 % tem 156 mmol de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, então 650 mL contém 101,25 mmol.

Nos casos de acetonemia, a terapia com bicarbonato deve ser muito cuidadosa, pois os cetoácidos podem ser metabolizados em suas respectivas bases. É importante que durante as terapias de correção do equilíbrio ácido-básico, sejam feitos monitoramentos pelo menos uma vez ao dia para não correr o risco de exceder as necessidades e causar o efeito contrário.

## **Importância do diagnóstico de deficiências de cobre, zinco e selênio**

Na alimentação dos animais existe um grupo de elementos essenciais denominados microelementos, cujas necessidades, em termos de quantidade são muito pequenas, mas nem por isso deixam de ter importância na nutrição. Os elementos que apresentam mais comumente alterações em nosso meio são o cobre, o zinco e o selênio. A apresentação de deficiências de algum destes elementos pode ser de dois tipos: primária, quando o aporte do próprio nutriente é deficiente, ou secundária, quando as concentrações nos alimentos são adequadas, mas existe algum outro componente que interfere na sua apropriada absorção ou utilização. Estes tipos de deficiências podem estar presentes com frequência e têm as mesmas consequências na saúde e na produção dos animais. Um desafio muito importante no diagnóstico destas deficiências é que, na maioria das ocasiões, a apresentação é subclínica e, por isso, os únicos dados que referem os proprietários ou responsáveis pelos animais são um decréscimo na produção e diminuição nos parâmetros reprodutivos.

### *Cobre*

Este elemento está considerado como o segundo mais deficitário no mundo depois do fósforo. O cobre tem uma grande quantidade de antagonistas, isto é, elementos ou compostos que, estando presentes, interferem na disponibilidade de cobre para ser absorvido em forma adequada. Os principais antagonistas em ordem de importância são: molibdênio (Mo), sulfatos, ferro (Fe), cálcio (Ca) e zinco (Zn). Sua presença em excesso causa uma deficiência secundária de cobre. O Mo é o principal antagonista do cobre. Quando existem grandes concentrações de Mo, os animais desenvolvem deficiências de cobre, enquanto que em pequenas quantidades, determina uma predisposição para ocorrência de intoxicação por cobre. Recomenda-se que a relação Cu:Mo na dieta seja de 3:1 a 6:1. Valores diferentes destes, podem ser causa de problemas no estado de cobre dos animais.

Alguns dos sinais mais evidentes na deficiência de cobre são: (i) Acromotriquia: especialmente evidenciada ao redor dos olhos. Tem sido descrito que pelagens de tons escuros como o preto, adquirem uma tonalidade avermelhada, enquanto que em pelagens marrom-claras ou vermelhas, a pigmentação torna-se amarela. O cobre é necessário para a formação adequada de melanina. (ii) Diarreia: observada principalmente nos casos de

deficiências secundárias. Embora não esteja totalmente esclarecida a causa, pensa-se que é por uma disfunção pancreática, associada a uma alteração da mucosa intestinal. (iii) Anemia: uma vez que o cobre é importante para o adequado metabolismo do Fe, elemento fundamental na síntese da hemoglobina. (iv) Infertilidade: várias referências mencionam que pode estar causada mais pelo excesso de Mo do que pela própria deficiência de cobre. Contudo, é necessário maior aprofundamento nesse tema para poder descrever adequadamente a patogenia nestes casos. É identificada uma diminuição no tamanho dos ovários quando existe hipocuprose. (v) Mau estado geral e perda ou pouco ganho de peso: O cobre participa em múltiplos processos metabólicos. Quando existe deficiência deste elemento, haverá repercussão em todos eles. Os sinais clínicos variam dependendo do grau de deficiência que tiver o animal.

O diagnóstico do status metabólico do cobre é um importante desafio, uma vez que podem existir concentrações adequadas do elemento no sangue e, no entanto, o animal apresentar hipo ou hipercuprose. Tem sido indicado que a forma mais precisa para estabelecer o status metabólico do cobre é mediante sua medição no tecido hepático. Entretanto, existem certas limitações para que esta possa vir a ser uma prova de rotina. Uma alternativa é que, ao invés de realizar biópsias nos animais vivos, se faça em nível de abatedouro ou usar a necropsia como sistema de diagnóstico para o rebanho. Ainda assim, existe a limitação de realizar a dosagem pois é necessário recorrer a laboratórios especializados que possuam a técnica de digestão de órgãos. Qualquer variação acima ou abaixo dos valores de referência (11,2 a 18  $\mu\text{mol/L}$ ) nos níveis séricos será considerada como uma alteração do cobre. Outras alternativas de diagnóstico são a medição de moléculas que contém cobre, tais como a ceruloplasmina (Cp), a citocromo-oxidase ou a superóxido dismutase (SOD).

Em caso de intoxicação por cobre, alguns dos sinais clínicos mais comuns são anorexia, depressão, ataxia, hemoglobinúria, anemia e morte súbita.

### *Zinco*

Este elemento é coenzima de muitos processos enzimáticos do organismo, além de formar parte de várias moléculas que integram as membranas celulares, tanto citoplasmáticas como de organelas, particularmente nos leucócitos. Entre as principais manifestações clínicas que se associam a sua deficiência estão a paraqueratose, defeitos



no crescimento, infertilidade, alteração de processos metabólicos, deformação de cascos e chifres (cervídeos), e, muito importante, a apresentação de imunodeficiências que causam infecções recorrentes, tais como mastite ou pneumonias. Estes últimos eventos, em decorrência dos defeitos na conformação dos leucócitos.

O cálcio é o principal antagonista do Zn, sendo necessário cuidar os níveis desse macromineral para evitar deficiências de Zn. Outros antagonistas descritos do Zn são o cádmio e o próprio cobre. O principal órgão de reserva do Zn é o fígado. Se os alimentos são deficientes em Zn, a deficiência pode apresentar-se rapidamente, uma vez que as reservas deste nutriente não são tão grandes quanto às de outros elementos, como o cobre. Quando se utilizam substitutos do leite a base de soja, existe uma predisposição para que os terneiros apresentem deficiência de Zn. O diagnóstico do status metabólico do Zn realiza-se medindo as concentrações hepáticas através de biópsia ou mediante a determinação dos níveis séricos. Neste caso, a precisão do diagnóstico é maior que no caso do cobre.

### *Selênio*

A principal função do Se no organismo é a de formar parte da enzima glutathion-peroxidase (GPx), que contém 4 átomos de Se em sua molécula. A GPx é um dos dois principais compostos antioxidantes do organismo, junto com a vitamina E. As deficiências de Se provocam sinais relacionados principalmente com o efeito antioxidante, sendo os animais mais jovens os mais suscetíveis aos efeitos adversos. O sinal de deficiência de Se mais comumente relatado nos animais é a degeneração das fibras musculares por efeito oxidativo, conhecida como doença do músculo branco. Nos terneiros, observa-se um retardamento no crescimento, baixo ganho de peso e massa muscular deficiente. Também se apresentam retenção placentária e diferentes graus de infertilidade. Outra importante manifestação da deficiência de Se, é a apresentação de imunodeficiência, devida a que a GPx, também participa no estímulo para uma adequada imunidade celular, e, por outro lado, favorece a adequada produção dos diferentes tipos de imunoglobulinas.

Para o diagnóstico da deficiência de Se, pode-se fazer a dosagem dos níveis do elemento ou, mais facilmente, mediante a medição da atividade da enzima GPx, no sangue completo devido a que a sua maior concentração se encontra nos eritrócitos.

Quando existem suspeitas de deficiências de algum microelemento sugere-se fazer a análise completa do ciclo solo-planta-animal, podendo medir-se as substâncias relacionadas como Cp, citocromo-oxidase ou SOD para o cobre e GPx para o selênio. Quando se estabelecem medidas encaminhadas a melhorar a fertilidade do rebanho, é sempre importante fazer a avaliação do status metabólico-mineral dos animais.

Por experiência dos autores, não é suficiente considerar ou identificar as concentrações de microelementos nas pré-misturas minerais, uma vez que a sua disponibilidade e absorção podem estar alteradas. Sempre é necessário revisar o estado mineral dos próprios animais. Recomenda-se coletar amostras sanguíneas de 10 animais ao menos uma vez por ano. É muito importante mencionar que, no manejo de amostras para determinação de minerais, sejam utilizados tubos especiais para este fim ou, na falta destes, colocar um parafilm entre a tampa e a amostra, pois as tampas comuns de borracha interferem, aumentando as concentrações, particularmente de zinco.

### **Etiopatogenia e tratamento da diarreia em terneiros**

As enterites ou doenças que cursam com diarreia são mais frequentes nos terneiros durante as 3 primeiras semanas de vida, sendo a causa mais importante de mortalidade nesses animais. A diarreia neonatal aguda tem causas multifatoriais, entre as quais se contam: (i) bactérias: *E.coli* (sorotipos enterogênicos K99+), *Salmonella* spp. e *Clostridium. perfringens* tipo C. (ii) vírus: rotavírus, coronavírus; (iii) parasitas: *Criptosporidium*, *Eimeria* spp. (depois de 3 semanas de idade); (iv) transtornos nutricionais; (v) fatores de predisposição (epidemiológicos) para diarreia, tais como: hipogamaglobulinemia, aumento da densidade da população (eleva a taxa de infecção na ternereira), fatores meteorológicos (má ventilação, alta umidade, ventos fortes, frio, calor), qualidade da dieta (substitutos lácteos, temperatura inadequada do leite, ingestão irregular do leite), e parição da fêmea (terneiros nascidos de mães primíparas tem maior incidência de hipogamaglobulinemia).

#### *Patogenia da diarreia*

O mecanismo da diarreia consiste em mudanças da função da mucosa do sistema digestivo, especialmente no equilíbrio entre secreção e absorção. Existem três mecanismos de alteração deste equilíbrio: (i) estimulação da secreção passiva

(hipersecreção passiva): produzida por fatores hemodinâmicos (inflamação) ou por substâncias osmótico-ativas (falha de digestão de lactose e outros glicídeos: diarreia nutricional); (ii) estimulação da secreção ativa (hipersecreção ativa): causada por toxinas bacterianas (*E.coli*, salmonelas); (iii) redução da absorção e da reabsorção (H<sub>2</sub>O, eletrólitos): ocorre durante enterites virais (rotavírus, coronavírus) por diminuição na superfície de absorção (destruição e atrofia de vilosidades).

Alterações na secreção, absorção e motilidade no abomaso e no intestino levam a mudanças na microflora intestinal e no pH dos sucos intestinais. Durante a diarreia ocorre perda de: (i) líquidos, que causa desidratação, com consequências mais severas no terneiro que nos adultos (Tabela 3); (ii) bicarbonato de sódio, que leva a acidose metabólica; (iii) eletrólitos (Na, K, Cl), causando um desequilíbrio eletrolítico; e (iv) energia, com aumento do catabolismo e desenvolvimento de hipoglicemia.

Tabela 3. Conteúdo de líquidos em animais com relação à idade

<b>Animal</b>	<b>Proporção de líquidos totais (%) com relação ao peso corporal</b>	<b>Líquido extracelular</b>	<b>Líquido intracelular</b>
Terneiro	73	2/3	1/3
Vaca	62	1/3	2/3

Entre os sinais clínicos da diarreia se contam: anorexia, desidratação (Tabelas 4 e 5), acidose metabólica, hiponatremia, hipocalemia, hipoglicemia, oligúria e uremia.

Tabela 4. Sinais clínicos de desidratação no terneiro

<b>Sinal clínico</b>	<b>Grau de desidratação</b>		
	<b>Leve</b>	<b>Média</b>	<b>Severa</b>
Afundamento dos olhos (mm)	1-2	2-4	> 4
Elasticidade da pele (segundos)	1-2	3-5	> 5
Aparência das mucosas	úmidas, quentes	anêmicas, quentes	secas, frias
Reflexo de sucção	+	-	-
Estado físico	normal	prostrado	extremidades frias, coma
Temperatura corporal (°C)	normal	normal	35,7-37,5

No tratamento da diarreia, considera-se o grau de desidratação. Assim, na desidratação leve, usar reidratação oral: 2 L 3 vezes ao dia por terneiro de uma solução que contenha os seguintes compostos: NaHCO<sub>3</sub>(36 g), NaCl (38 g), KCl (10 g), glicose (200 g). Dissolver todos os compostos em 10 L de água a 38°C. Não se deve administrar conjuntamente com leite. Utilizar somente reidratação oral durante os primeiros 2 dias. No terceiro dia, começar com leite. Para o tratamento da desidratação moderada e severa durante a diarreia em terneiros, recomenda-se utilizar soluções que contenham: NaHCO<sub>3</sub>, NaCl, KCl, glicose (osmolalidade= 300 a 450 mosm/kg).

Tabela 5. Indicadores clínico-laboratorias da desidratação

Parâmetro	Grau de desidratação			
	Leve	Média	Severa	Morte
Perda de peso corporal (%)	4-6	6-8	8-11	> 11
pH sanguíneo	7,3	7,25	7,15	7,0
Excesso de base (mmol/L)	-5,0	-10,0	-15,0	-20,0
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol/L)	20	15	10	< 10
Hematócrito (%)	40	45	50	> 50

Entre as desvantagens do uso de soluções orais que contenham NaHCO<sub>3</sub>, devem considerar-se: alcalinização do abomaso, fonte de energia insuficiente (25%), falta de aporte de proteínas e vitaminas, insuficiência de Mg, Ca e P, impossibilidade de combinar com leite (mínimo 4 h de separação entre o tratamento e a administração de leite), e diminuição da imunidade. Estas desvantagens do uso de medicamentos que contêm bicarbonato, não existem quando se utilizam medicamentos a base de sais: Na, K, Mg, Ca, P, citratos, acetatos e glicose.

## Referências

- Acres, S. D., Saunders, J. & Radostits, O. M. (1977). Acute undifferentiated neonatal diarrhea of beef calves: the prevalence of enterotoxigenic *E. coli*, reo-like (rota) virus and other enteropathogens in cow-calf herds. *Can. Vet. J.*, 18, 113-121.
- Bouda, J. & Jagos, P. (1991). Disorders in the acid-base balance. In Vrzgula, L. (ed) *Metabolic disorders and their prevention in farm animals*. (pp. 248-268). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier.
- Bouda, J., Doubek, J., Medina-Cruz, M., Paasch, M. L., Dvorak, R., Soska, V. (1997). Pathophysiology of severe diarrhea in calves of different age. *Acta Vet. (Brno)*, 66, 87-94.

- Bouda, J. & Jagos, P. (1984). Biochemical and hematological reference values in calves and their significance for health control. *Acta Vet. (Brno)*, 53, 137-142.
- Bouda, J., Núñez, O.L., Quiroz, R.G., Medina, C.M. Diagnóstico preventivo, perfiles de laboratorio y sus interpretaciones. Congreso Nacional de Buiatría. Aguascalientes, agosto, 79-84, 1999.
- Bouda, J., Paasch, M. L. & Yabuta, O. A. (1997). Desarrollo y empleo de diagnóstico preventivo de los trastornos ruminales y metabólicos en bovinos. *Veterinaria México*, 28, 189-195.
- Bouda, J., Paasch, M. L., Dvorák, R., Yabuta, O. A. & Doubek, J. (1996). Portable equipment for collection and analysis of ruminal fluid and urine, for diagnosis and treatment of ruminal and metabolic diseases. *Proceedings of the 19th World Buiatrics Congress*, Edinburgh.
- Bouda, J., Paasch, M. L., Candanosa, M. E., López, R. C., Quiroz, R. G. F. (1997). Estudio de los parámetros clínico-bioquímicos antes y después de rehidratación oral en becerros diarreicos. *Vet. Méx.*, 28, 87- 91.
- Bouda, J., Paasch, M. L., Quiroz, R. G., Candanosa, A. E. (1999). Empleo de pruebas de campo para el diagnóstico de cuerpos extraños en bovinos. *Congreso Nacional de Buiatría*. Aguascalientes, México, agosto.
- Bouda, J., Paasch, M.L., Yabuta, O. A. K. & Quiroz, R. G. (1995). Nuevos aspectos en el diagnóstico y tratamiento de trastornos metabólicos en el bovino. *Memorias del XIX Congreso Nacional de Buiatría*. Torreón, México. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos.
- Dirksen, G. (1989). Rumen function and disorders related to production diseases. *Proceedings of the 7th International Symposium on Production Disease in Farm Animals*. Ithaca, New York.
- Graham, T. W. (1991). Trace element deficiencies in cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 7, 153-215.
- Howard, J. L. (1981). Ruminal metabolic acidosis. *Bovine Practitioner*, 16, 44-53.
- Jagos, P. & Dvorák, R. (1991). Metabolic disorders of the processes in the rumen. In Vrzgula, L. (ed.) *Metabolic disorders and their prevention in farm animals*. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier.
- Jagos, P. & Illek, J. (1991). A system of preventive diagnosis of the metabolic disorders in cattle. In Vrzgula, L. (ed.) *Metabolic disorders and their prevention in farm animals*. (pp. 371-384). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier.
- Kelly J. M., Whitaker D. A. & Smith E. J. (1988). A dairy herd health and productivity service. *Brit. Vet. J.*, 144, 470-481.
- McGuirk, S. M. (1996). Neonatal calf management: A guide to disease investigation. *Proceedings of the 19th World Buiatrics Congress*. Edinburgh.
- Mills, C. F. (1987). Biochemical and physiological indicators of mineral status in animals: copper, cobalt and zinc. *J. Anim. Sci.*, 65, 1702-1711.
- Nordlund, K. V. & Garrett, E. F. (1994). Rumenocentesis: A technique for collecting rumen fluid for the diagnosis of subacute rumen acidosis in dairy herds. *Bovine Practitioner*, 28, 109-112.

- Payne, J. M. & Payne, S. (1987). *The metabolic profile test*. Oxford, UK: Oxford University Press.
- Quiroz, R. G., Carbajal, A. R., Bouda, J., Salas, A. J., García, R. G. (1999). Alteraciones ruminales y cetosis diagnosticadas por pruebas de campo en vacas lecheras. *Congreso Nacional de Buiatria*. Aguascalientes, México, agosto.
- Quiroz, R.G. F., Bouda, J. & Candanosa, M. E. (1997). Cómo enviar muestras de bovinos para análisis clínicos. *México Ganadero*, 421, 37-40.
- Ramírez, C. E. & Ferrer, C. G. (1991). Influencia de diferentes fuentes de variación sobre la concentración plasmática de Cu y Zn en bovinos de tambo. *Rev. Med. Vet.*, 72, 16-18.
- Roussel, A. J. & Kasari, T. R. (1990). Using fluid and electrolyte replacement therapy to help diarrheic calves. *Vet. Med.*, 85, 303-311.
- Snodgrass, D. R., Terzolo, H. R. & Sherwood, D. (1986). Aetiology of diarrhoea in young calves. *Vet. Rec.*, 119, 31-34.
- Suttle, N. F. (1986). Copper deficiency in ruminants; recent developments. *Vet. Rec.*, 119, 519-522.
- Telfer, S. B., Mackenzie, A. M., Illingworth, D. V. & Jackson, D. W. (1996). The use of caeruloplasmin activities and plasma copper concentrations as indicators of copper status in cattle. *Memories 19th World Buiatrics Congress*. Edinburgh.
- Wikse, S. E., Herd, D., Field, R., Holland, P. (1992). Diagnosis of copper deficiency in cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 200, 1625-1629.