

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

LAÍS STEFFEN GAMBIN

**AVALIAÇÃO DA CETOSE SUBCLÍNICA NA PRODUÇÃO LEITEIRA E
DESEMPENHO REPRODUTIVO DE VACAS DE ALTA LACTAÇÃO ATÉ CEM
DIAS PÓS PARTO.**

**Porto Alegre
2017**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**AVALIAÇÃO DA CETOSE SUBCLÍNICA NA PRODUÇÃO LEITEIRA E
DESEMPENHO REPRODUTIVO DE VACAS DE ALTA LACTAÇÃO ATÉ CEM
DIAS PÓS PARTO.**

Autor: Laís Steffen Gambin

Trabalho apresentado à Faculdade de Veterinária
como requisito parcial para a obtenção da graduação
em Medicina Veterinária

Orientador: Dr. André Gustavo Cabrera Dalto

**Porto Alegre
2017**

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal do Rio Grande do Sul, seu corpo docente, direção e administração pela oportunidade de fazer o curso.

Ao professor Dr. André Gustavo Cabrera Dalto, pela oportunidade, pela orientação, confiança e apoio na elaboração deste trabalho.

Aos meus pais, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

Aos meus amigos, companheiros de trabalhos e irmãos na amizade que fizeram parte da minha formação e que vão continuar presentes em minha vida com certeza.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

SUMÁRIO

	RESUMO	5
	ABSTRACT	6
1	INTRODUÇÃO	7
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
2.1	Metabolismo Energético dos Ruminantes	8
2.2	Glicemia em Ruminantes	8
2.3	Destino Ácidos Graxos Voláteis	9
2.4	Formação dos Corpos Cetônicos	10
2.5	Cetose	11
2.5.1	Cetose Clínica.....	13
2.5.2	Cetose Subclínica	13
2.6	Perdas Econômicas	14
2.7	Fatores de risco	15
2.8	Diagnóstico	16
2.9	Tratamento	17
2.10	Prevenção	19
3	CONCLUSÃO	20
	REFERÊNCIAS	21
	APÊNDICE A	25

RESUMO

A cetose subclínica, ocorre devido ao Balanço Energético Negativo que acomete as vacas leiteiras, principalmente as de alta produção no período pós-parto. Essa doença metabólica teve um aumento de ocorrência devido à seleção genética para maior produção leiteira e tem repercussão mundial, levando a grandes perdas econômicas. O objetivo do presente estudo foi analisar dentro de um rebanho a influência dos corpos cetônicos, principalmente, o beta-hidroxibutirato (BHB) na taxa de prenhez e sua relação com o Escore de Condição Corporal (ECC) e com a produção de leite. Além disso, perceber a correlação que existe entre a taxa de prenhez e os Dias Em Lactação (DEL) e realizar um compilado de informações para melhor entendimento da doença. Os ruminantes são dependentes do propionato para a disponibilização de glicose para a manutenção e para a produção leiteira. No pós-parto, há a diminuição da ingestão de alimento e falta de glicose circulante, assim o propionato entra na rota metabólica para a formação dos corpos cetônicos, acetato, beta-hidroxibutirato (BHB) e acetoacetona. Os corpos cetônicos são usados pelos tecidos periféricos na tentativa de manter a homeostasia do animal, porém o seu uso possui um limite que quando excedido promove o excesso de corpos cetônicos circulantes e leva ao quadro de cetose. A cetose pode ser classificada em clínica, $BHB \geq 1,2\text{mmol/L}$ com sinais clínicos e em subclínica, $BHB \geq 1,2\text{mmol/L}$ sem sinais clínicos. O seu diagnóstico é principalmente feito através da mensuração do beta-hidroxibutirato no sangue. O tratamento pode ser feito de diversas maneiras mas o mais indicado é a administração de glicocorticoides e propilenglicol. Porém a melhor solução para essa doença metabólica é o controle do ECC e o correto manejo alimentar na fase de transição.

ABSTRACT

Subclinical ketosis happens due to Negative Energy Balance that affects dairy cows, particularly high production ones, in the postpartum period. There has been an increase in the occurrence of this metabolic disorder because of genetic selection for greater milk production, and the consequences of this condition have worldwide repercussion, leading to huge economic losses. The aim of the present study was to analyze ketone bodies within a herd, especially beta-hydroxybutyrate (BHB), and determine their influence on pregnancy rates and relation to Body Condition Scoring (BCS) and milk production. Furthermore, this study also aimed to establish a correlation between pregnancy rates and Days Of Lactation (DOL) and produce a body of information for a better understanding of the disease. Ruminants depend on propionate for glucose availability for maintenance and milk production. In the postpartum, there is a decrease in food intake and lack of circulating glucose, therefore propionate enters the metabolic pathway to form ketone bodies, acetone, beta-hydroxybutyric acid (BHB) and acetoacetic acid. Ketone bodies are used by peripheral tissues in an attempt to maintain the animal's homeostasis, however, this usage has a limit that when exceeded promotes excess of circulating ketone bodies and leads to the clinical picture of ketosis. Ketosis can be classified as clinical, BHB $\geq 1,2$ mmol/L with clinical signs, and subclinical, BHB $\geq 1,2$ mmol/L without clinical signs. Its diagnosis is mainly based on measurement of beta-hydroxybutyrate blood levels. There are many treatment possibilities, and the most recommended course of action is the administration of glucocorticoids and propylene glycol. Nonetheless, the best solution for this metabolic disorder is the control of BCS and the correct feeding management during the transition period.

1 INTRODUÇÃO

A atividade leiteira no Brasil tem crescido a cada ano, no primeiro trimestre de 2017 foram industrializados 5.843.171,02 L de leite, 8% a mais que o alcançado no mesmo trimestre de 2016, sendo destes 789.555,41 L provenientes do Rio Grande do Sul (BRASIL, 2017). O aumento de produtividade na cadeia leiteira foi possível por diversos fatores, tais quais, melhoramento genético, nutrição e melhorias no manejo.

Em contra partida, essa alta eficiência produtiva levou a uma drenagem de energia, pela priorização metabólica da partição dos nutrientes pela glândula mamária (RADOSTITS *et al.*, 2016), e uma maior mobilização da energia metabolizável para a glândula mamária, com consequente aumento na produção de leite. Uribe *et al.* (1995) observaram que nas últimas décadas houve um aumento do risco de desenvolver cetose nos bovinos devido a seleção genética para o incremento da produção leiteira e da gordura no leite. Entretanto, alguns autores afirmam que a seleção genética para alta produção é normalmente acompanhada pela melhoria na eficiência da conversão alimentar (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014b), não sendo, necessariamente, acompanhada de desordens metabólicas.

A cetose é reconhecida como uma das mais importantes doenças metabólicas das vacas leiteiras, com elevadas consequências econômicas (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014b) e enquanto a indústria leiteira ambiciona pelo ganho genético ligado ao aumento da produção de leite, as vacas continuarão também aumentando o risco de desenvolver cetose (DUFFIELD, 2000). Dessa forma, desenvolver estratégias de prevenção para cetose clínica e subclínica que mantem elevada a produção de leite, traria muitos benefícios à indústria leiteira (DUFFIELD, 2000). Portanto, o objetivo do presente estudo foi apresentar uma revisão sobre o tema e analisar dentro de um rebanho a influência dos corpos cetônicos, principalmente, o beta-hidroxibutirato (BHB) na taxa de prenhez e sua relação com o Escore de Condição Corporal (ECC) e com a produção de leite. Além disso, perceber a correlação que existe entre a taxa de prenhez e os Dias Em Lactação (DEL).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Metabolismo Energético dos Ruminantes

Os ruminantes possuem o estômago dividido em 4 compartimentos: retículo, rúmen, omaso - onde ocorre a fermentação microbiana - e o abomaso, onde ocorre a digestão química dos produtos finais da fermentação (LEEK, 2014). O ingrediente principal da dieta dos ruminantes são as forragens (gramíneas), estas possuem em sua estrutura celulose, hemicelulose e lignina. A quebra desses carboidratos estruturais ocorre com o auxílio de enzimas, como a celulase e hemicelulase, produzida apenas por microorganismos presentes no rúmen. Por esse motivo, os ruminantes dependem da relação simbiótica com a população bacteriana ruminal para se nutrir (LEEK, 2014).

A formação dos Ácidos Graxos Voláteis (AGV), propionato, butirato e acetato, ocorre resumidamente em quatro estágios. O primeiro envolve a hidrólise dos polissacarídeos vegetais em monossacarídeos, seguido da transformação destes em 1,6- bifosfato. No segundo estágio, ocorre a oxidação anaeróbica do 1,6-bifosfato em piruvato via fosfoenolpiruvato. O terceiro estágio resulta na produção dos produtos finais da fermentação. O piruvato segue para formação de butirato e propionato e o intermediário fosfoenolpiruvato segue na via para formação do acetato (LEEK, 2014).

A proporção formada de AGV é diretamente influenciada pela dieta do animal, considerando que a dieta básica de um ruminante é composta por gramíneas, a fermentação resulta em um proporção de 65-70% acetato, 15-25% propionato e 5-10% butirato (NUSSIO; CAMPOS; LIMA, 2006). Entretanto, dietas ricas em carboidratos, muito utilizadas na alimentação de vacas leiteiras, tem um aumento na produção de propionato (LERNER; BERNARDO; ARM, 2008). A dieta a base de amido (concentrados) que substituem em demasia a ingestão de celulose podem tornar os mecanismos digestivos incapazes de atender a demanda aumentada de fermentação, o que pode levar a uma série de distúrbios metabólicos (LEEK, 2014).

2.2 Glicemia em Ruminantes

A glicose é um metabólito que representa a via metabólica da energia (GONZÁLEZ *et al.*, 2000b), nos ruminantes a concentração de glicose sanguínea é de 60 a 80 mg/dl, que

normamente se mantem constante (GOFF, 2014). Devido ao forte controle hormonal o déficit energético deve ser muito intenso para que diminua a concentração de glicose sanguínea (ROWLANDS; POCOK, 1976). Contudo, a glicemia pode ser utilizada no monitoramento homeostásico dos animais, em que glicose sanguínea menor que 35mg/dl em vacas leiteiras no início de lactação é um importante sinal de risco para o desenvolvimento de cetose (GONZÁLEZ *et al.*, 2000a).

2.3 Destino dos Ácidos Graxos Voláteis

Os AGV resultantes da fermentação ruminal são absorvidos em sua maioria, pela parede ruminal por difusão passiva e uma pequena parte é absorvida por difusão facilitada em forma de ânions (LEEK, 2014).

O ácido butírico e o ácido acético são cetogênicos (BEITZ, 2014), enquanto o ácido propiônico é o único AGV capaz de fazer gliconeogênese (THOMAS, 2000). O butirato (quatro carbonos) é oxidado a corpo cetônico, β -hidroxibutirato (BHB), principalmente, no fígado. O BHB é prontamente metabolizado pelos tecidos corpóreos e também utilizado na síntese de ácidos graxos pela glândula mamária na formação de leite (BEITZ, 2014).

O ácido propiônico (três carbonos) é a principal fonte de glicose em ruminantes (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014b), devido a sua capacidade de ser convertido em oxalacetato e, assim, entrar na via da gliconeogênese. Isso explica a dificuldade que os ruminantes apresentam na correção do desbalanço energético negativo (LEEK, 2014). Cerca de 30% do propionato (LEEK, 2014) é convertido a lactato no epitélio ruminal (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014c). O ácido láctico juntamente com o propionato remanescente são metabolizados no tecido hepático em oxalacetato e em seguida em glicose (BEITZ, 2014). A glicose pode ser de uso imediato, liberada na circulação sanguínea ou de estocagem sob a forma de glicogênio hepático. Os níveis de glicose nos ruminantes é baixo em comparação com os monogástricos devido a essa dependência da conversão dos AGV em energia (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014b).

O acetato não sofre metabolização, nem na sua absorção nem na sua passagem pelo fígado. É o AGV mais abundante na circulação e é o principal precursor da síntese de gordura. Já nos tecidos corporais auxilia a formação de acetil-Coa para o ciclo de Krebs e na glândula mamária, juntamente com o butirato produz os ácidos graxos presentes no leite (LEEK, 2014).

2.4 Formação dos Corpos Cetônicos

Vacas leiteras no final da gestação e início da lactação possuem uma demanda de glicose aumentada em 30% e 75%, respectivamente, em decorrência do crescimento final do feto, produção de colostro e o pico da lactação. Tudo isto somado a redução da ingestão de matéria seca que leva o animal a um Balanço Energético Negativo (BEN), e a quantidade de nutrientes necessários para manutenção e produção é muito maior que a ingestão (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014b). Desse modo, o organismo da vaca apresenta um quadro de hipoglicemia e é iniciada a produção de corpos cetônicos para tentar compensar a falta de glicose para os tecidos (LEEK, 2014), assim é mantida a homeostasia do organismo (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014b). Em vacas leiteiras de alta lactação o desencadeamento da produção de corpos cetônicos é principalmente pela gliconeogênese realizada pela glândula mamária para produção de lactose (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014b).

Os corpos cetônicos representam uma parte essencial do metabolismo intermediário ruminal, quando os níveis de carboidratos estão reduzidos, sendo uma importante forma de energia para os tecidos periféricos (DUFFIELD, 2000), como o renal e o muscular cardíaco (BRUSS, 2008). Além disso, um baixo nível circulante de corpos cetônicos, como o BHB, é considerado normal por participar diretamente na síntese de gordura do leite (PALMQUIST; *et al.*, 1969). Zarrin *et al.* (2014a,b), propõem que o BHB também pode suprir a demanda de glicose que o sistema imune necessita para sua manutenção. Entretanto, existe um limite para essa capacidade de uso pelos tecidos (GOFF, 2014) e em excesso ocasiona transtornos metabólicos graves em bovinos que causam grandes perdas produtivas e podem levar o animal a morte (RADOSTITS *et al.*, 2016).

Na ausência de glicose, por meio da ação do glucagon o fígado recebe uma grande quantidade de ácidos graxos mobilizados do tecido adiposo (GOFF, 2014). No tecido hepático ocorre a degradação dos ácidos graxos em Acetil-CoA para sua entrada no ciclo de krebs, entretanto a produção de Acetil-CoA excede a capacidade de ligação com o oxalacetato e é desviado para a produção dos corpos cetônicos. A limitação do oxalacetato também ocorre pela deficiência de precursores gliconeogênicos, como o propionato e o lactato que estão sendo direcionados ao tecido mamário para a produção de lactose. Os corpos cetônicos são de três tipos: acetoacetato, acetona e β -hidroxibutirato (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014b). Eles também são formados no rúmen, entretanto, essa produção é insignificativa perto da cetogênese hepática (GOFF, 2014).

2.5 Cetose

Cetose é uma doença metabólica caracterizada pela formação excessiva de corpos cetônicos no organismo, decorrente de uma alta mobilização de gordura e sua oxidação hepática quando há falta de glicose disponível para a geração de energia nos tecidos corpóreos (GOFF, 2014). Além disso, é considerada um distúrbio ruminal, uma vez que é decorrente da incapacidade de fermentação do rúmen para aumentar o fornecimento de propionato e suprir a demanda por glicose do animal (GOFF, 2014).

Os eventos metabólicos mais importantes que ocorrem na cetose são manifestados por hipoglicemia e cetonemia (GONZÁLEZ *et al.*, 2000a). Todas as vacas de alta produção apresentam quantidades de gordura aumentada de 15 a 32% no fígado antes do parto e primeiras semanas do pós parto (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014b).

A cetose é de grande prevalência em rebanhos leiteiros de alta produção em todo o mundo. A doença acomete principalmente vacas durante a curva ascendente de lactação - dois primeiros meses pós- parto (BAIRD, 1982). Porém, estudos recentes sugerem a existência de um pico de ocorrência da cetose nas primeiras duas semanas pós-parto (DUFFIELD *et al.*, 1997; DUFFIELD *et al.*, 1998). Durante esse período as vacas entram em BEN decorrente da baixa ingestão de alimentos, influenciada pelo aumento do estrógeno, e do início da lactação que aumenta em 70% a demanda energética do animal (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014a).

A prevalência clínica de cetose em rebanhos é de 7%, entretanto a prevalência de cetose subclínica é estimada em torno de 34% (RADOSTITS *et al.*, 2016), sendo as vacas múltíparas mais suscetíveis que as primíparas (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014b) e sistemas de produção extensivos de maior prevalência para a doença (RADOSTITS *et al.*, 2016). A cetose subclínica é a principal causa de prejuízos na bovinocultura leiteira (RADOSTITS *et al.*, 2016) por ser de difícil diagnóstico, uma vez que não apresenta os sinais clínicos característicos da doença clínica.

A cetose em bovinos foi classificada por Lean *et al.* (1992) de acordo com sua apresentação natural em rebanhos leiteiros em cinco tipos: cetose primária, cetose secundária, cetose alimentar, cetose por inanição e cetose provocada por doença nutricional específica. A cetose primária é a de maior ocorrência e acomete vacas com bom a excessivo escore de condição corporal, altamente produtivas e que consomem uma dieta de boa qualidade. A cetose secundária acontece quando existem outras doenças provocando uma diminuição na

ingestão de alimentos, sendo as doenças mais comuns a levarem a vaca a desenvolver esse quadro: deslocamento de abomaso, reticulite traumática, metrite, mastite e outras doenças comum no período pós-parto. O terceiro tipo é a cetose alimentar e é desencadeada pela ingestão de silagem com uma quantidade excessiva de butirado que conseqüentemente também leva a uma redução na ingesta por reduzir a palatabilidade do alimento, normamente esse tipo leva ao desenvolvimento da cetose subclínica. A cetose por inanição ao contrário da cetose primária acomete bovinos com condição corporal ruim e com uma dieta de baixa qualidade, sendo composta com pouca proteína e pouco propionato. O último tipo é a cetose por deficiência nutricional específica geralmente causadas por carência de cobalto que impede a correta metabolização do ácido propiônico no ciclo de Krebs (RADOSTITS *et al.*, 2016).

Alguns autores, buscam simplificar a classificação da cetose e separam os cinco tipos em três: tipo I (cetose por inanição e cetose secundária), tipo II (cetose primária) e Butírica (cetose alimentar) e esquematiza, como na Tabela 1, conforme a característica metabólica dos animais.

Tabela 1: Classificação dos tipos de cetose nas vacas.

Característica	Tipos De Cetose		
	Tipo I	Tipo II	Butírica
Descrição	subnutrição, espontânea	vaca gorda e fígado gorduroso	silagem com altas concentrações de butirato
BHB	muito alto	Alto	Alto
AGL	Alto	Alto	normal ou alto
Glicose	Baixa	Alta	Variável
Insulina	Baixa	Alta	Variável
Estatus da insulina	Baixa	Alta	Variável
Condição corporal	Baixa	Alta	Variável
Gliconeogênese	Alta	Baixa	Variável
Patologia no fígado	não apresenta	fígado gorduroso	Variável
Período de risco	3 a 6 semanas de lactação	1 a 2 semanas de lactação	Variável
Prognóstico	Bom	Desfavorável	Variável

Fonte: GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014b

2.5.1 Cetose Clínica

A cetose clínica geralmente ocorre em vacas leiteiras entre a 2ª e a 7ª semanas de lactação (DUFFIELD et al., 1997), possui incidência de 2% a 15% nos rebanhos (ANDERSSON, 1988) e é caracterizada pelo aumento dos corpos cetônicos no sangue, na urina ou no leite juntamente com sinais clínicos visíveis, como inapetência, rápida perda de peso e fezes secas (GORDON; LEBLANC; DUFFIELD, 2013). Ocasionalmente, as vacas também vão apresentar queda na produção de leite e sinais nervosos, como por exemplo lambedura vigorosa e cegueira (DUFFIELD, 2000). Entretanto, a severidade dos sinais clínicos parece depender da capacidade individual do animal de tolerar os corpos cetônicos (HERDT, 2000). A cetose clínica pode ser dividida em duas formas, do Definhamento e Forma Nervosa (RADOSTITS *et al.*, 2016). A Forma do Definhamento é a mais comum e é caracterizada pela perda de apetite, diminuição da produção de leite que pode chegar até 25% com diminuição dos sólidos não-gordurosos e pelo rápido emagrecimento. As vacas tendem a ter o apetite reduzido principalmente por concentrados, encontram-se deprimidas e com as fezes ressecadas. Além disso, algumas vezes pode ser percebido um odor característico de acetona na respiração e no leite (RADOSTITS *et al.*, 2016). Uma condição de cetose clínica pode ser diagnosticada quando coincidem sinais clínicos com os seguintes valores de indicadores bioquímicos: BHB >1,2 mmol/L, glicose <45 mg/dl, e triglicérides <0,12 mmol/L (GONZÁLEZ *et al.*, 2000a). A Forma Nervosa tem como sinais clínicos, marchar em círculos, afastamento ou cruzamentos das pernas, compressão ou apoio da cabeça, cegueira, movimentos sem rumo e perambulação, lambedura vigorosa da pele e objetos inanimados, apetite depravado e movimentos mastigatórios com salivação. Adicionalmente, os animais apresentam hiperestesia e mugidos ao serem beliscados ou golpeados, contudo os episódios nervosos geralmente são curtos, com duração entre uma e duas horas, mas que podem recidivar com intervalos de oito a doze horas (RADOSTITS *et al.*, 2016).

2.5.2 Cetose Subclínica

A cetose subclínica é definida pelo aumento da concentração dos corpos cetônicos acima do valor considerado normal no sangue, no leite ou na urina, na ausência dos sinais clínicos (GORDON; LEBLANC; DUFFIELD, 2013). Um aumento de BHB de 1,2 mmol/L já é considerada cetose subclínica nos bovinos leiteiros (OSPINA *et al.*, 2010). Os casos de

cetose subclínica são diagnosticados, aproximadamente 90% das vezes nos primeiros dois meses pós-parto, sendo sua maior prevalência na segunda e terceira semana pós-parto (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014b), chegando a uma incidência nos rebanhos de até 40% no mesmo período, porém o pico de incidência ocorre na primeira semana de lactação (DUFFIELD, 2000). EMERY *et al.* (1964) supõem que 50% das vacas em lactação de um rebanho estão em cetose subclínica nesse período.

Essa desordem metabólica está relacionada a perdas de um a quatro litros de leite por dia durante o período da sua ocorrência. Além disso, está associada ao desenvolvimento de cetose clínica, metrite, deslocamento de abomaso e diminuição da eficiência reprodutiva (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014b).

Esta forma de cetose é a mais comum de ocorrer, principalmente em vacas que são alimentadas com excesso de proteína, menos de 18% de fibras e que venham a perder mais que 20% de peso nas primeiras semanas após o parto (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014b). Dentre as complicações da cetose subclínica, que vão além da queda na produção de leite, estão as reprodutivas que trazem comprometimento econômico aos produtores, e se manifestam na forma de anestro, cistos ovários, morte embrionária, baixa secreção de progesterona, abortos, mumificação fetal, atonia uterina e retenção de placenta (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014b).

2.6 Perdas econômica

A fonte mais importante de perdas econômicas ao produtor de leite é a cetose clínica assim como a subclínica (RADOSTITS *et al.*, 2016). Os custos associados a doença incluem o tratamento dos animais, o aumento do risco e o tratamento de outras doenças associadas, queda na produção de leite, piora na performance reprodutiva e aumento do risco de descarte dos animais nos primeiros 30 dias de lactação (MCART *et al.*, 2011; MCART; NYDAM; OETZEL, 2012).

Alguns estudos demonstram que BHB acima de 1,6 mmol/L leva a uma queda de produção de 1,8 kg de leite por dia, enquanto vacas com mais de 1,8 mmol/L produzem 3 Kg a menos de leite por dia e vacas com mais de 2,0 mmol/L de BHB chegam a perder 4 Kg de leite/dia (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014b). Estima-se também que essas perdas na produção de leite podem chegar a 450 kg ao final de uma lactação (DOHOO; MARTIN, 1984b; GUSTAFSSON; ANDERSSON; EMANUELSON, 1993).

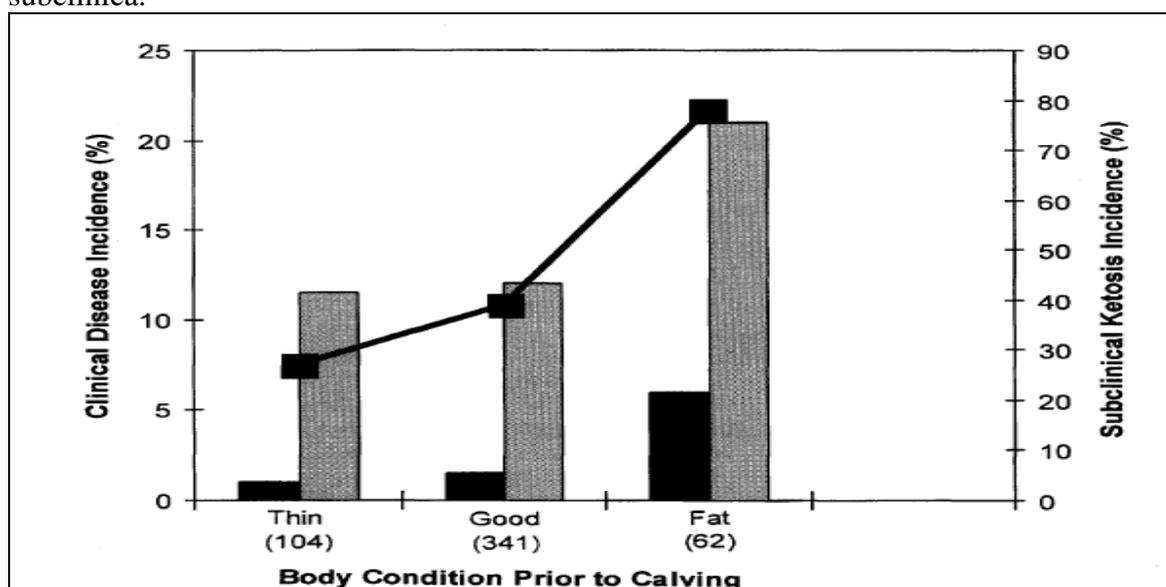
Por esses motivos, é importante comparar essas perdas com o custo da adoção de medidas profiláticas (DUFFIELD, 2000). Lembrando que todos esses custos dependem da incidência da doença, dos fatos de risco presentes e do manejo nutricional no período seco que a propriedade realiza e por isso varia de fazenda para fazenda (DUFFIELD, 2000).

2.7 Fatores de Risco

A cetose bovina tem como importantes fatores predisponentes: período seco muito prolongado, vacas com sobrepeso no período pós-parto, ocorrência concomitante de hipocalcemia, retenção de placenta e hipomagnesemia (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014b), sendo categorizada como uma doença de pós-parto imediato, em que 90% dos casos ocorrem nos primeiros 60 dias de lactação (RADOSTITS *et al.*, 2016). Dentre esses fatores, os que mais influenciam na cetose subclínica incluem manejo, número de partos, escore de condição corporal (ECC), genética e época do ano (DUFFIELD, 2000).

O ECC próximo ao parto é um importante fator de risco para o posterior desenvolvimento da cetose (DUFFIELD, 2000), o risco é mais alto em vacas que chegam ao parto excessivamente gordas (RADOSTITS *et al.*, 2016). Segundo reportou DUFFIELD *et al.* (1998), vacas obesas com ECC igual a quatro ou maior possuem maiores concentrações de BHB pós-parto e maior chance de desenvolver cetose subclínica do que vacas que parem com condição corporal média ou magra.

Figura 1: Relação entre Escore de Condição Corporal e o desenvolvimento de cetose subclínica.



Autor: DUFFIELD, 2000

Legenda: Relação entre escore de condição corporal pré-parto e a incidência de cetose subclínica (quadrados, BHB do soro), cetose clínica (barras sólidas) e demais doenças (barras achurradas).

As estações do ano também são fatores de risco para o aparecimento de cetose subclínica, um estudo canadense comprovou que nos meses de verão aumenta-se a prevalência da cetose subclínica, isto devido a redução de consumo causada pelo estresse térmico e a mudança das forragens (DUFFIELD, 2000). Além disso, o aparecimento da cetose é maior quando os animais apresentam doenças como retenção de placenta, claudicação, hipomagnesemia (RADOSTITS *et al.*, 2016). Muitos autores também já reportaram um aumento de prevalência de hipercetonemia conforme o aumento do número de lactações (DOHOO; MARTIN, 1984a; DUFFIELD *et al.*, 1997).

A hereditáriedade dos quadros de cetose e cetose subclínica são variáveis (DUFFIELD, 2000). DOHOO e MARTIN (1984a) estimam que a herdabilidade da cetose clínica é de 0,32, porém não foi encontrado componentes genéticos relacionados a cetose subclínica. Conclui-se genericamente então, que tanto a herdabilidade da cetose clínica quanto da cetose subclínica variam de baixa a moderada (DUFFIELD, 2000). Sendo que alguns autores consideram que não haja esta predisposição hereditária (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014b).

2.8 Diagnóstico

O diagnóstico da cetose clínica se baseia na soma do histórico do animal, sinais clínicos e níveis de corpos cetônicos. A severidade da síndrome é proporcional ao grau de hipoglicemia e de cetonemia (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014b). Nos bovinos é normal encontrar a concentração de glicose sanguínea reduzida para 20 a 40 mg/dl em relação ao normal de 50mg/dl (RADOSTITS *et al.*, 2016), entretando quando se trata de cetose decorrente de outras doenças a glicemia normalmente se encontra acima de 40mg/dl podendo até estar superior ao valor normal (RADOSTITS *et al.*, 2016). Já a cetose pode ser diagnosticada como subclínica quando as concentrações séricas de BHB forem acima de 1,2 mmol/L e como clínica quando acima de 2,6 mmol/L (OETZEL, 2004).

Os corpos cetônicos estão presentes tanto no sangue, quanto na urina e no leite (DUFFIELD, 2000). O BHB por ser mais estável no sangue é considerado padrão ouro a ser mensurado na avaliação de cetose (GARRO; MIAN; ROLD, 2014). Em contrapartida o acetoacetato é instável e rapidamente degradado em acetona e dióxido de carbono (BERGMAN, 1971).

Os testes para diagnóstico de corpos cetônicos são qualitativos e quantitativos. O teste qualitativo mais comumente utilizado é o teste de nitroprussiato alcalino, também conhecido

como teste de Rothera (GONZÁLEZ *et al.* 2000a). O método do teste consiste na reação do nitropussiato com a acetona ou a acetoacetona que resulta numa reação de coloração roxa, entretanto é mais sensível ao acetoacetato e completamente insensível a presença de BHB. Esse teste pode ser usado para qualquer fluido corpóreo, incluindo sangue, plasma, soro, urina e leite, e está disponível em tabletes, tiras e pó. O resultado é geralmente expresso na forma semi-quantitativa em negativo, forte ou fraco; ou em cruzes (+, ++, +++) (BRUSS, 2008). Além desse método quantitativo, a análise de corpos cetônicos nos fluidos corporais incluem o teste de microdifusão, usado primeiramente para acetona e o teste enzimático usado para acetoacetona e BHB. Contudo nesses testes deve se respeitar a instabilidade do acetoacetato e a volatilidade da acetona (BRUSS, 2008).

O teste enzimático para acetoacetona e BHB em fluidos corporais tem boa precisão e acurácia (BRUSS, 2008) e provavelmente é um dos testes mais utilizados para as avaliações quantitativas de corpos cetônicos. Esse método foi adaptado a uma grande variedade de testes automatizados (BRUSS, 2008). Atualmente são amplamente utilizados os aparelhos portáteis para diagnóstico a campo e estes possuem uma sensibilidade estimada em 85% e uma especificidade estimada em 94% quando usados para diagnosticar cetose subclínica com ponte de corte de BHB igual ou maior que 1,2 mmol/L (VOYVODA; ERDOGAN, 2010).

Para a escolha de qual teste usar é interessante considerar que a concentração de corpos cetônicos na urina é 4 vezes maior que a nível sanguíneo (BAIRD, *et al.*, 1968). No leite, Andersson (1988) determinou que a acetona corresponde a 95% da concentração do sangue, a acetoacetona 45% e o BHB só 13% (DUFFIELD, 2000). Também ocorre diferenças na mensuração do BHB usando o teste enzimático se ele for feito com sangue total, soro ou plasma, sendo que sangue e soro apresentam resultados muitos similares, entretanto quando utilizado o plasma os valores são menores, provavelmente pela interferência do anticoagulante (DUFFIELD, 2000).

2.9 Tratamento

Segundo RADOSTITS *et al.* (2016), o tratamento para cetose se baseia no alívio da necessidade de formar glicose pelos tecidos e permitir que o uso dos corpos cetônicos continue normalmente. As formas de fazer esse aumento de gliconeogênese e redução da mobilização lipídica são administrando glicose, glicocorticóides, insulina, vitamina B12 e propilenoglicol, associados ou não e adequados ao quadro clínico do animal. Em decorrência

das perdas econômicas ocasionadas pela doença é ideal identificar e tratar vacas com BHB sérico igual ou maior que 1,4 mmol/L (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014b).

Casos severos de cetose clínica, com sinais neurológicos, requer uma intervenção rápida para retirar o animal do risco de óbito, nessas situações uma aplicação de 500ml de glicose 50% intravenoso (IV) é benéfico (GORDON; LEBLANC; DUFFIELD, 2013). Entretanto, a resposta a esse tratamento é transitória e as recidivas ocorrem frequentemente (RADOSTITS *et al.*, 2016), portanto quando usado deve ser associado ou seguido de doses repetidas de glicose.

Também é possível fazer a administração de insulina para facilitar a captação de glicose pelas células em casos de ineficiência com os tratamentos com glicose e corticosteróides, a dose de uso é de 200 a 300 UI de insulina zíncica por animal, feita no subcutâneo a cada 24 e 48 horas (RADOSTITS *et al.*, 2016). A insulina nunca deve ser utilizada como único tratamento devido ao risco de causar hipoglicemia nos animais (GORDON; LEBLANC; DUFFIELD, 2013). Sua ação se deve ao fato de ser um hormônio anabólico, reduzindo o balanço energético negativo, favorecendo a síntese de gorduras, e reduzindo o uso de corpos cetônicos como fonte de energia (GORDON; LEBLANC; DUFFIELD, 2013). A vitamina B12 também é indicada para o tratamento de cetose, porém seu valor terapêutico não é comprovado (GORDON; LEBLANC; DUFFIELD, 2013; RADOSTITS *et al.*, 2016).

O tratamento com glicocorticóides promove uma hiperglicemia 24 horas após sua aplicação (HERDT; EMERY, 1992) e auxilia na redistribuição da glicose pelo corpo além de fazer gliconeogênese (RADOSTITS *et al.*, 2016). Segundo Radostits *et al.* (2016), uma aplicação de 10 mg de dexametasona mantém uma condição hiperglicêmica de quatro a seis dias de duração. Contudo, os esteróides possuem efeitos colaterais e podem bloquear a ação da insulina, somando a falta de comprovação de sua eficácia não se pode sustentar seu uso como tratamento de cetose. Em contrapartida Radostits *et al.* (2016) afirma que a resposta de vacas com cetose primária tratadas com glicocorticóides e glicose IV é superior e com menos recidivas que o uso isolado de um ou de outro fármaco.

O uso do propilenoglicol para o tratamento da cetose foi descrito pela primeira vez em 1954 (JOHNSON, 1954; MAPLESDEN, 1954), este tratamento é considerado, atualmente, como o único tratamento que promove a resolução do quadro de cetose melhorando a saúde e a produtividade da vaca (MCART *et al.*, 2011; MCART; NYDAM; OETZEL, 2012). Se preconiza a administração de 300g de propilenoglicol oral, na forma de drench, uma vez ao dia durante cinco dias (GORDON; LEBLANC; DUFFIELD, 2013). Ao chegar no rúmen o

propilenoglicol é absorvido em parte pelas paredes ruminais e em parte convertido em propionato (NIELSEN; INGVARTSEN, 2004). A parte que foi diretamente absorvida entra no Ciclo de Krebs, promovendo a oxidação da acetil-Coa e estimulando a gliconeogênese (GORDON; LEBLANC; DUFFIELD, 2013). O propionato formado no rúmen na administração do propilenoglicol também auxilia no processo da gliconeogênese e no aumento da insulina circulante. A insulina já tem aumentos significativos em 15 minutos, mantendo-se elevada por duas horas ou mais (STUDER; GRUMMER; BERTICS, 1993), esse aumento da insulina permite uma queda na mobilização lipídica e consequente redução da produção hepática de corpos cetônicos (GORDON; LEBLANC; DUFFIELD, 2013).

2.10 Prevenção

A prevenção da cetose subclínica deve ser focada no correto manejo alimentar das vacas no período seco e de transição, em razão de sua ocorrência no início da lactação (DUFFIELD, 2000). Os objetivos da dieta no período de transição como prevenção, é maximizar a ingestão de matéria seca pela vaca e garantir um adequado balanço energético (OETZEL, 1998). Outro manejo alimentar importante é evitar a oferta de alimentos cetogênicos (TVEIT *et al.*, 1992) e a oferta crescente de alimentos concentrados (GUSTAFSSON; ANDERSSON; EMANUELSON, 1993; ANDERSSON, 1998). É indicado que a vaca leiteira chegue ao parto com escore 3 a 3, 5 (na escala de 1 a 5) (GONZÁLEZ *et al.* 2000a).

O uso de aditivos e propilenoglicol no início da lactação, que são administrados como fonte energética nesse período também é uma forma de controle da doença (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014b; EMERY *et al.*, 1964; SAUER; ERFLE; FISHER, 1973). A oferta de niacina na quantidade de 6 a 12 gramas por dia antes do parto também auxilia na redução dos níveis de BHB (DUFVA *et al.*, 1983; FRONK; SCHULTZ, 1979). Ademais, o uso de monensina devido ao seu potencial gluconeogênico tem se mostrado um possível fator anticetogênico (DUFFIELD, 2000) e vacas que recebem aplicações de somatotropina podem apresentar menor risco de desenvolver o quadro metabólico na lactação subsequente (RADOSTITS *et al.*, 2016).

3 CONCLUSÃO

A cetose subclínica, é uma doença metabólica ainda crescente na produção leiteira, acometendo até 40% das vacas dos rebanhos nos primeiros meses pós parto e por não ser de fácil visualização é de difícil diagnóstico. Essa doença metabólica leva a perdas na produção de leite, reduz a eficiência reprodutiva e desencadeia outras doenças, como deslocamento de abomaso nos animais, sendo a principal causa de prejuízos ao produtor leiteiro. Cabe aos veterinários expandirem seus conhecimentos sobre ela e se tornarem aptos a diagnosticar e tratar os animais acometidos, mas principalmente ter uma atuação efetiva na prevenção dos casos e assim reduzir as perdas econômicas geradas ao produtor.

REFERÊNCIAS

- ANDERSSON, L. Subclinical ketosis in dairy cows. **Vet. Clin. North Am. Food Animal Pract.** v. 4, p. 233–251, 1988.
- BAIRD, G.D. *et al.* Biochemical aspects of bovine ketosis. **Biochem. J.** v. 107, p. 683-689, 1968.
- BAIRD, D.G. Primary ketosis in the high-producing dairy cow: Clinical and subclinical disorders, treatment, prevention and outlook. **Journal of Dairy Science**, v. 65, p. 1-10, 1982.
- BEITZ, D. C. Metabolismo dos Carboidratos. *In*: REECE, W. O. **Dukes, fisiologia dos animais domésticos**, 12th ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014, cap. 30, p. 462-475.
- BERGMAN, E.N. Hyperketonemia-ketogenesis and ketone body metabolism. **Journal of Dairy Science.** v. 54, p. 936-948, 1971.
- BRASIL. Indicadores IBGE: estatística da produção pecuária. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.** Brasília, set. 2017.
- BRUSS, M. L. Lipids and Ketones. *In*. KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals.** 6. ed. Amsterdam: Elsevier, 2008. cap. 4, p. 81-115.
- DOHOO, I. R.; MARTIN, S. W. Disease, production and culling in Holstein-Friesian cows III: Disease and production as determinants of disease. **Preventive Veterinary Medicine.** v. 2, p. 671-690, 1984a.
- DOHOO, I. R.; MARTIN, S. W. Subclinical ketosis: Prevalence and associations with production and disease. **Can. J. Comp.** v. 48, p. 1-5, 1984b.
- DUFFIELD, T.F. *et al.* Efficacy of monensin for the prevention of subclinical ketosis in lactating dairy cows. **J Dairy Sci**, v. 81, p. 2866-2873, 1998.
- DUFFIELD, T.F. *et al.* Use of test day milk fat and milk protein to predict subclinical ketosis in Ontario dairy cattle. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa v. 38, p. 713-718, 1997.
- DUFFIELD, T. F. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. **Veterinary clinics of north america: food animal practice**, v. 16, n. 2, p. 231-253, 2000.
- DUFVA, G.S. *et al.* Effect of niacin supplementation on milk production and ketosis of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 66, p. 2329-2336, 1983.
- EMERY R.S., *et al.* Detection, occurrence, and prophylactic treatment of borderline ketosis with propylene glycol feeding. **Journal of Dairy Science.** v. 47, p. 1074-1079, 1964.
- FRONK, T.J.; SCHULTZ, L. H. Oral nicotinic acid as a treatment for ketosis. **Journal of Dairy Science**, v. 62, p. 1804-1807, 1979.

GARRO, C. J.; MIAN, L.; ROLD, M. C. Subclinical ketosis in dairy cows: prevalence and risk factors in grazing production system. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. v. 98, p. 838–844, 2014.

GOFF, J. P. Distúrbios do Metabolismo dos Carboidratos e da Gordura. *In*: REECE, W. O. **Dukes, fisiologia dos animais domésticos**, 12th ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014, cap. 33, p. 510-518.

GONZÁLEZ, F. H. D. *et al.* **Uso de perfil metabólico no diagnóstico de doenças metabólico-nutricionais em ruminantes**. *In*: _____. Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre: UFRGS, 2000a. p. 89-106.

GONZÁLEZ, F. H. D. *et al.* **Uso dos perfis metabólicos no monitoramento nutricional dos ovinos**. *In*: _____. Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre: UFRGS, 2000b. p. 73-82.

GONZÁLEZ, F. H. D.; CORRÊA, M. N.; SILVA, S. C. Bioquímica Ruminal. *In*: _____. **Transtornos metabólicos nos animais domésticos**. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2014c, cap. 1, p. 13-32.

GONZÁLEZ, F. H. D.; CORRÊA, M. N.; SILVA, S. C. Transtornos clínicos em vacas leiteiras no período de transição. *In*: _____. **Transtornos metabólicos nos animais domésticos**. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2014a, cap. 13, p. 315-324.

GONZÁLEZ, F. H. D.; CORRÊA, M. N.; SILVA, S. C. Transtornos do metabolismo dos lipídeos. *In*: _____. **Transtornos metabólicos nos animais domésticos**. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2014b, cap. 6, p. 155-176.

GORDON, J. L.; LEBLANC, S. J.; DUFFIELD, T. F. Ketosis Treatment in Lactating Dairy Cattle. **Vet. Clin. Food Anim.**, v. 29, p. 433-445, 2013.

GUSTAFSSON, A.H.; ANDERSSON, L.; EMANUELSON, U. Effect of hyperketonemia, feeding frequency and intake of concentrate and energy on milk yield in dairy cows. **Animal Production**. V. 56, p. 51-60, 1993.

HERDT, T.H.; EMERY, R.S. Therapy of diseases of ruminant intermediary metabolism. **Vet. Clin. North Am. Food Animal Practice**; v. 8, n.1, p. 91–106,1992.

HERDT, T. H. Ruminant adaptation to negative energy balance. **Vet. Clin. North Am. Food Animal Practice**, v. 16, n. 2, p. 215- 230, 2000.

JOHNSON, R.B. The treatment of ketosis with glycerol and propylene glycol. **Cornell Vet**. v. 44, p. 6-21, 1954.

LEAN, I. J. *et al.* Bovine ketosis: a review. **Vet. Bull.**, v. 62. p. 1–14, 1992.

LEEK, B. F. Digestão no Estômago do Ruminante. *In*: REECE, W. O. **Dukes, fisiologia dos animais domésticos**, 12th ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014, cap. 27, p. 404-437.

LERNER, A. P.; BERNARDO, B.; ARM, S. M. S. Estudo dos processos bioquímicos da fermentação, degradação e absorção de nutrientes dos alimentos em ruminantes. **PUBVET**, v. 2, n. 44, 2008. Disponível em: <<http://www.pubvet.com.br/texto.php?id=431>>. Acesso em: 18 dez. 2017.

MAPLESDEN, D.C. Propylene glycol in the treatment of ketosis. *Can. J. Comp. Med.* v. 18, n. 8, p. 287-293, 1954.

MCART, J.A., *et al.* A field trial on the effect of propylene glycol on milk yield and resolution of ketosis in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. **Journal of Dairy Science**. v. 94, p. 6011-6020, 2011.

MCART J.A.; NYDAM, D. V.; OETZEL, G. R. A field trial on the effect of propylene glycol on displaced abomasum, removal from herd, and reproduction in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. **Journal of Dairy Science**. v. 95, p. 2505-2512, 2012.

NIELSEN, N.I.; INGVARTSEN, K.L. Propylene glycol for dairy cows. **Anim. Feed Sci. Technology**. v.115, n. 3-4, p. 191-213, 2004.

NUSSIO, L.G.; CAMPOS, F.P.; LIMA, M. L. M. Metabolismo de carboidratos estruturais. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 1st ed., 2006, p. 151-182.

OETZEL, G.R. Dairy: Nutrition management. Nutritional management of dry dairy cows. **Compend Contin Educ Pract Vet Food Animal**. v. 20, p. 391-396, 1998.

OETZEL, G. R. Monitoring and testing dairy herds for metabolic diseases. **Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 20, p. 651-674, 2004.

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

PALMQUIST, D. L., *et al.* Availability and metabolism of various substrates in ruminants: Entry rate into the body and incorporation into milk fat of D(-)B-hydroxybutyrate. **Journal of Dairy Science**. v. 52, p. 633-638, 1969.

RADOSTITS, O. M. *et al.* Doenças metabólicas. In:_____.**Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos, e equinos**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016, cap. 28, p.1275 -1329.

ROWLANDS, G. J.; POCOK, R. Statistical basis of the Compton metabolic profile test. **Vet. Rec.**, v. 98, p. 333-338, 1976.

SAUER, F.D.; ERFLE, J. D.; FISHER, L.J. Propylene glycol and glycerol as a feed additive for lactating dairy cows: An evaluation of blood metabolite parameters. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 53, p. 265-271, 1973.

STUDER, V.A.; GRUMMER, R.R.; BERTICS, S.J. Effect of prepartum propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. **J Dairy Sci**. v.76, n. 10, p. 2931-2939, 1993.

THOMAS, H. H. Ruminant Adaptation to Negative Energy Balance: influences on the etiology of ketosis and fatty liver. **Veterinary clinics of north america: Food animal practice**, v. 16, n. 2, p. 215-230, Jul. 2000.

TVEIT, B *et al.* Etiology of acetonemia in Norwegian cattle: Effect of ketogenic silage, season, energy level, and genetic factors. **J. Dairy Sci.** v. 75, p. 2421-2432, 1992.

URIBE, H. A. *et al.* Genetic parameters for common health disorders of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 421-430, 1995.

VOYVODA, H.; ERDOGAN, H. Use of a hand-held meter for detecting subclinical ketosis in dairy cows. **Research in Veterinary Science**. v. 89, p.344-351, 2010.

ZARRIN, M. *et al.* Induced hyperketonemia affects the mammary immune response during lipopolysaccharide challenge in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 97, p. 330-339, 2014a.

ZARRIN, M. *et al.* Hyperketonemia during LPS induced mastitis affects systemic and local intramammary metabolism in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 97, p. 3531-3541, 2014b.

APÊNDICE A – Artigo Científico

Avaliação da Cetose Subclínica em Bovinos Leiteiros da Raça Holandesa em Início de Lactação.

Laís Steffen Gambin¹, Gabriella dos Santos Velho¹, André Gustavo Cabrera Dalto¹ UFRGS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

laisgambin@gmail.com CEP:906070-020

Abstract

The aim of the present study was to analyze ketone bodies within a herd, especially beta-hydroxybutyrate (BHB), and determine their influence on pregnancy rates and relation to Body Condition Scoring (BCS) and milk production. Furthermore, this study also aimed to establish a correlation between pregnancy rates and Days Of Lactation (DOL). The study was conducted with 50 cows in lactation in a rural property of Rio Grande do Sul. The animals were considered to be in subclinical ketosis when BHB was higher or equal to 1,2mmol/L. Of the total of 50 animals, 21 presented with clinical picture of ketosis, and at the end of the experiment 22 cows were pregnant. No significant difference was observed ($p < 0,05$) between the variation of measured BHB on D0 and D30 and pregnancy rates, or in the relation between the DOL groups (40-60 DOL; 61-75 DOL; 76-90 DOL; >90 DOL) and pregnancy rates, and the BCS did not show any influence on the animal's BHB levels. Significant difference ($p > 0,05$) was observed solely in the evaluation of BHB levels in two groups ($\leq 1,1\text{mmol/L}$ e $\geq 1,2\text{mmol/L}$) regarding milk production on D0.

Resumo

O propósito desse estudo foi analisar dentro de um rebanho a influência dos corpos cetônicos, principalmente, o beta-hidroxibutirato (BHB) na taxa de prenhez e sua relação com o Escore de Condição Corporal (ECC) e com a produção de leite. Além disso, perceber a correlação que existe entre a taxa de prenhez e os Dias Em Lactação (DEL). Foi realizado com 50 vacas em lactação em uma propriedade rural do Rio Grande do Sul. Esses animais

foram considerados em cetose subclínica quando o BHB se encontrava maior ou igual a 1,2mmol/L. Do total de 50 animais, 21 apresentaram quadro de cetose, ao término do experimento 22 vacas estavam prenhas. Não foi encontrada diferença significativa ($p < 0,05$) entre a variação do BHB mensurada no D0 e no D30 com a taxa de concepção, nem na relação entre os grupos de DEL (40-60 DEL; 61-75 DEL; 76-90 DEL; >90 DEL) e a taxa de prenhez das vacas e o ECC não mostrou influência na concentração de BHB dos animais. Foi encontrada diferença significativa ($p > 0,05$) apenas na avaliação da concentração do BHB em dois grupos ($\leq 1,1$ mmol/L e $\geq 1,2$ mmol/L) com a produção de leite do D0.

Introdução

Cetose subclínica é definida pelo aumento das concentrações de corpos cetônicos no sangue e ausência de sinais clínicos (RABOISSON; MOUNIÉ; MAIGNÉ, 2014). Um quadro de cetose subclínica pode ser considerado quando as concentrações sanguíneas de corpos cetônicos, principalmente o beta-hidroxibutirato (BHB) atingem concentrações $\geq 1,2$ mmol/L em animais com ausência de sinais clínicos (SAKHA *et al.*, 2007; HAGHIGHAT-JAHROMI; NAHID, 2011). A prevalência da doença em rebanhos de vacas de alta produção é estimada entre 7% a 32% (NIELEN *et al.*, 1994), sendo esta prevalência considerada maior nas primeiras semanas de lactação (BAIRD, 1982).

A cetose subclínica é a principal doença metabólica que causa perdas econômicas ao produtor de leite (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014), os custos com a doença incluem queda no potencial produtivo de leite e o aumento de doenças relacionadas ao parto (DUFFIELD, 2000). Segundo os Uribe *et al* (1995) a crescente incidência de cetose a longo prazo é esperada, uma vez que a seleção genética das vacas leiteiras se baseia apenas no aumento da produção de leite e de gordura. O forte aumento da demanda por energia após o parto para a produção de leite em vacas de alta produção juntamente com uma ingestão insuficiente de matéria seca conduz os animais a um balanço energético negativo (INGVARTSEN; ANDERSEN, 2000; DRACKLEY; OVERTON; DOUGLAS, 2001). Em resposta a essa condição metabólica desfavorável ocorre o aumento dos corpos cetônicos circulantes com a intenção de manter a homeostasia (DUFFIELD, 2000). Resumidamente a cetose é o resultado de um balanço energético negativo, crescente mobilização lipídica e crescente cetogênese hepática (GARRO; MIAN; ROLD, 2014). Os objetivos desse trabalho são identificar os grupos de maior ocorrência da cetose subclínica e avaliar os impactos diretos na taxa de concepção do rebanho, bem como avaliar o escore de condição corporal

como um fator de prevenção da doença e os impactos de alterações na dieta sobre os níveis de BHB.

Materiais e Métodos

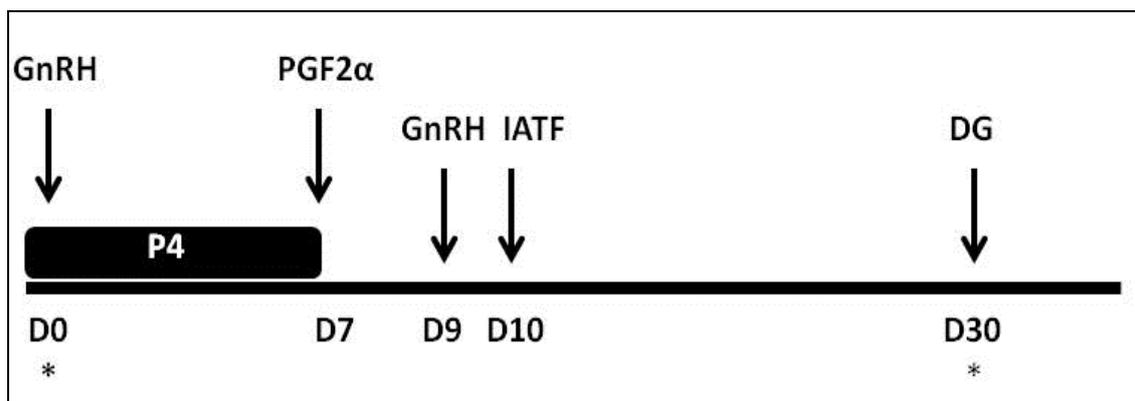
Localidade e Animais

O estudo experimental foi realizado de julho a dezembro de 2017, em uma propriedade leiteira na zona rural da cidade de Eldorado do Sul, no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. A propriedade possui, aproximadamente 300 animais da raça Holandesa, sendo que destes 200 estão em ordenha. Na fazenda os animais são criados em um sistema semi-intensivo e são separados em dois lotes, conforme a produção leiteira. Lote com produção de mais de 25 litros de leite por dia (lote de alta produção) e lote com produção abaixo de 25 litros de leite por dia (lote de baixa produção).

A rotina da fazenda não foi alterada para a realização do projeto, as vacas eram ordenhadas duas vezes ao dia, pela manhã e pela tarde, após a ordenha recebiam a dieta no coxo. O protocolo de inseminação utilizado é baseado no Ovsinch®, que consiste na aplicação intramuscular de 100µg de GnRH no chamado dia zero (D0), em qualquer fase do ciclo estral, que faz a maturação e ovulação de um folículo dominante iniciando uma nova onda folicular, sete dias (D7) depois é aplicado 35mg intramuscular de PGF2α, que faz a regressão do corpo lúteo, após dois dias (D9) mais uma aplicação intramuscular de GnRH é feita para a maturação de um novo folículo dominante, em 24 horas as vacas iniciam a apresentação de cio e podem ser inseminadas (PURSLEY; MEEZ; WILTBANK, 1995). Porém a propriedade utiliza entre o D0 e o D7 um implante intravaginal de progesterona, para maior eficiência reprodutiva (STEVENSON, *et al.* 2006).

O diagnóstico de gestação foi realizado com auxílio de ultrassom Esaote Europe® Alquila Pro com probe transretal 30 dias após o início do protocolo de IATF. A confirmação da prenhez foi feita 60 dias após a inseminação com palpação retal.

Figura 1: Protocolo reprodutivo e dias de coleta de dados



Legenda: Aferições de glicemia e BHB (asterísco), D0 início do protocolo reprodutivo e D30, diagnóstico de gestação.

Autor: Próprio autor

Avaliação bioquímica

Para a pesquisa foram selecionadas aleatoriamente 50 vacas leiteiras com Dias Em Lactação (DEL) iguais ou menores que cem. Nesses animais foi aferido o beta-hidroxibutirato (BHB), principal indicador da produção de corpos cetônicos pela mobilização de gordura para compensar a falta de glicose sanguínea e a glicemia, no D0 e no D30. Para fazer essa análise foi usada uma gota de sangue periférico da veia caudal, coletada com auxílio de uma agulha 40x12, após a ordenha da tarde enquanto os animais eram alimentados. Os aparelhos utilizados foram: glicosimetro OneTouch UltraMini® e o medidor de corpos cetônicos Optium Xceed®, ambos portáteis e de rápida avaliação.

Foi aceito como valores de referência para a glicose sanguínea os mesmos utilizados por GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA (2014), sendo considerado normoglicêmica a vaca com valores entre 50 -60mg/dl, hipoglicêmica abaixo de 50mg/dl e hipoglicêmica acima de 60mg/dl. Os valores de referência para o BHB são menores ou iguais a 1mmol/l em vacas saudáveis (RADOSTITS *et al.*, 2016), considerando valores acima de 1,2mmol/L como cetose subclínica (GARRO; MIAN; ROLD, 2014). Valores acima de 1,2mmol/l com sinais clínicos característicos de um quadro cetogênico passam a classificar os animais em cetose clínica (GARRO; MIAN; ROLD, 2014).

Dieta

No sistema semi-extensivo da fazenda os animais permanecem em pastagens de Azevém (*Lolium perene*) no inverno. Nos meses de verão as pastagens são compostas por Papuã (*Brachiaria plantaginea*) e Milheto (*Pennisetum americanum*). Além do pasto as vacas leiteiras do lote de alta produção possuem uma dieta composta por: 30Kg de silagem de milho, 9Kg de ração, 300g de sal mineral, 1,5Kg de feno. A dieta é oferecida no coxo duas vezes por dia após as ordenhas. O lote de baixa lactação só difere na alimentação ao receber 3Kg de ração a menos que o lote de alta. Entretanto, a dieta dos animais sofreu uma mudança dois meses antes do término do experimento, passando a ser composta por: 8Kg de silagem de milho, 9Kg de ração, 300g de sal mineral, sendo mantida as pastagens.

Tabela 1: Dieta antiga

	Silagem de Milho	Ração	Sal Mineral	Feno
Alta Lactação	30Kg	9Kg	300g	1,5Kg
Baixa Lactação	30Kg	6Kg	300g	1,5Kg

Fonte: Próprio autor

Tabela 2: Dieta nova

	Silagem de Milho	Ração	Sal Mineral	Feno
Alta Lactação	8Kg	9Kg	300g	-
Baixa Lactação	8Kg	6Kg	300g	-

Fonte: Próprio autor

Dados de produção

Foi coletado dados de produção individual das vacas a partir do software GMZ® utilizado na propriedade, dos quais foi, idade, número de lactações, aplicação de BST, pai e mãe e produção de leite no D0.

O Escore de Condição Corporal (ECC) foi avaliado no D0 e no D30, com o uso da escala visual proposta por FERGUSON; GALLIGAN; THOMSEN (1994) que vai de 1 (vacas muito magras) até 5 (vacas muito gordas). Essa avaliação por ser subjetiva foi realizada sempre pela mesma pessoa (GONZÁLEZ *et al.*, 2000).

Análise Estatística

Para a análise estatística, utilizou-se o software GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, Inc., San Diego, EUA). Para avaliar a normalidade dos dados, foi utilizado o teste de *Shapiro-Wilk*. Foi considerado um nível de significância de 5%.

Resultados

Do total de 50 vacas leiteiras avaliadas no estudo, foi constatado 21 casos de cetose subclínica no D0, que foi reduzido a 13 casos no D30. Os índices glicêmicos e o BHB, possibilitou classificar os casos de cetose subclínica, 17 casos do Tipo I (hipercetonemia e hipoglicemia), 2 casos do Tipo II (hipercetonemia e hipoglicemia) e 2 casos butíricos (hipercetonemia e normoglicemia). Ao final do experimento 22 animais estavam prenhes. Vinte e cinco bovinos estavam no lote de alta produção, com média de produção de 33,8 litros/dia e 25 no lote de baixa produção, com produção média de leite de 19,5 litros/dia.

Não foi encontrada associação entre a variação do BHB mensurada no D0 e no D30 como a taxa de prenhez (Figura 1) no teste qui-quadrado ($P > 0,05$). Assim como, no mesmo teste estatístico não foi encontrada relação entre os grupos de DEL (40-60 DEL; 61-75 DEL; 76-90 DEL; >90 DEL) e a taxa de prenhez das vacas (Figura 2) ($P > 0,05$).

Na avaliação da concentração do BHB em dois grupos ($\leq 1,1\text{mmol/L}$ e $\geq 1,2\text{mmol/L}$) com a produção de leite do D0 (Figura 3), obteve-se maior média de produção de leite ($31,75\text{L} \pm 9,69$) no grupo de maior BHB e um média menor de produção leiteira ($23,44\text{L} \pm 6,77$) no grupo de menor BHB, pelo Teste T ($P < 0,05$).

O ECC não mostrou influência na concentração do BHB (Figura 4), animais com $\text{ECC} \leq 2,5$ apresentaram um BHB médio de $1,26\text{mmol/L}$ e com $\text{ECC} > 2,5$ apresentaram BHB médio de $1,02\text{mmol/L}$ ($P > 0,05$).

Discussão

A prevalência de cetose subclínica encontrada no rebanho foi de 42%, isto é, dentro da prevalência esperada para rebanhos de vacas leiteiras segundo EMERY *et al.* (1964) que sugere uma prevalência de cetose subclínica de até 50% em vacas em início de lactação. Já NIELEN *et al.* (1994), afirma que a prevalência de cetose subclínica em vacas de alta produção é estimada em 7% a 32% do rebanho. Estudos mais recentes feitos na Nova Zelândia por Compton *et al.* (2014), relatam uma prevalência de 24% (BHB sanguíneo \geq

1,2mmol/L) em vacas de sete a doze dias em lactação, entretanto, estes animais eram somente criados a pasto ingerindo menor quantidade de concentrado que os animais do presente estudo. A taxa de concepção do rebanho foi de 44%, também estando dentro do esperado para rebanhos leiteiros que utilizam o protocolo Ovsynch com implante de P4 (STEVENSON, *et al.* 2006).

Os quadros de cetose mais comuns são a primária (LEAN, *et al.* 1992) ou a Tipo I (GONZÁLEZ; CORRÊA; SILVA, 2014) que acomete vacas com bom a excessivo escore de condição corporal, altamente produtivas e que consomem uma dieta de boa qualidade (LEAN, *et al.* 1992). Essas características são iguais às condições de criação dos animais utilizados no estudo e das 21 vacas com cetose subclínica, aproximadamente 81% se enquadraram nessa categoria. 9,5% foi classificado como sendo secundária ou Tipo II, decorrente de doenças secundárias (LEAN, *et al.* 1992) e 9,5% na forma alimentar ou butírica, contudo como todos os animais são alimentados com a mesma dieta é provável que elas sejam melhor classificadas como Tipo I.

Ospina *et al.* (2010) destacou uma menor prenhez em vacas com cetose subclínica, Walsh *et al.* (2007) estabeleceu que vacas com cetose subclínica tem de 20 a 50% menos chance de engravidar na primeira inseminação. Rutherford; Oikonomou; Smith (2016), confirmaram os efeitos negativos da cetose subclínica na reprodução, como menor demonstração de estro e ciclos mais curtos devido ao balanço energético negativo em que se apresentam esses animais (LOPEZ; SATTER; WILTBANK, 2004). No presente estudo, entretanto, não foi encontrada diferença significativa entre a concentração sanguínea de BHB e a taxa de prenhez, nem mesmo entre os animais que tiveram uma redução dos corpos cetônicos circulantes entre o D0 e o D30, provavelmente, devido ao número reduzido de animais que participaram do experimento.

Neste estudo, o DEL não influenciou a taxa de prenhez do rebanho. Os grupos foram divididos conforme as fases de lactação; início de lactação (40-60 DEL), entrada no pico de lactação (61-75 DEL), saída do pico de lactação (76-90 DEL) e após o pico de lactação (>90 DEL). Mesmo com um direcionamento quase que total de glicose para a glândula mamária para iniciar a lactação (GORDON; LEBLANC; DUFFIELD, 2013) a prenhez se manteve constante entre os grupos, o que mostra não haver relação com a crescente produção leiteira até alcançar o pico de lactação e a taxa de prenhez.

Segundo Duffield *et al.* (2009), vacas com cetose subclínica moderada produzem mais leite que vacas sem cetose subclínica. Isto corresponde ao encontrado no presente estudo, em que vacas com $BHB \geq 1,2\text{mmol/L}$ apresentam uma produção leiteira de $31,75L \pm 9,69$ e os

animais com BHB $\leq 1,1$ mmol/L, uma produção leiteira de $23,44L \pm 6,77$). A cetose subclínica é associada a queda na produção leiteira (RABOISSON; MOUNIÉ; MAIGNÉ, 2014), entretanto a queda da produção leiteira está mais associada com as doenças decorrentes do quadro de cetose subclínica, como metrites, deslocamento de abomaso, retenção de placenta e essas patologias, já são sabidas que geram quedas na produção de leite (FOURICHON *et al.*, 1999; SEEGER; FOURICHON; BEAUDEAU, 2003). Além disso, a seleção genética para maior produção leiteira, também trouxe o aumento de doenças metabólicas (URIBE *et al.*, 1995).

O ECC no presente estudo não influenciou a concentração de BHB sanguíneo, este fato provavelmente se deve a baixa amostragem utilizada no projeto e também ao fato de a maioria dos animais se encontrarem no mesmo ECC (2,75), uma vez que cetose é uma desordem metabólica que ocorre com mais frequência em vacas que atingem o parto com sobrepeso (DUFFIELD, 2000; GILLUND, *et al.*, 2001). A condição corporal no momento do parto e no início da lactação está associada com a incidência de muitas doenças metabólicas, principalmente a cetose (DUFFIELD, 2000; GILLUND, *et al.*, 2001). Gillund *et al.* (2001) relatou o dobro de risco de desenvolver cetose em vacas leiteiras que parem com ECC $>3,5$ comparado com as que chegam ao parto com ECC até 3,25. Outro estudo realizado por Gillund *et al.* (2001), mostrou que o BHB se encontra 50 a 100% maior em vacas que parem com ECC 3 e sofrem restrição alimentar após o parto em comparação com vacas que parem com ECC 2,85 e sofrem a mesma restrição. O que mostra a sensibilidade das vacas a alterações de BHB no periparto em relação a essa doença metabólica (ROCHE, J. R. *et al.*).

Obteve-se uma redução nos casos de cetose subclínica no decorrer do estudo, que se deve, provavelmente, a alteração ocorrida na dieta dos animais, com uma redução de 31Kg de concentrado por dia, em consequência disto os animais tiveram uma queda na produção leiteira, facilitando a correção do BEN. Com essa alteração na dieta se reduz os índices de butirato – ácido graxo volátil cetogênico (BEITZ, 2014).

Conclusão

Muitos estudos ao longo dos anos comprovaram os efeitos negativos da cetose subclínica na reprodução e na produção de leite. Neste estudo não encontramos diferenças significativas nessas correlações, provavelmente devido ao número de animais amostrados ser pequeno. Entretanto, a tendência das informações coletadas confirmam as teorias sobre a

doença metabólica já estudadas, sendo necessário repetir este estudo com mais animais e durante um período de tempo maior.

Figuras

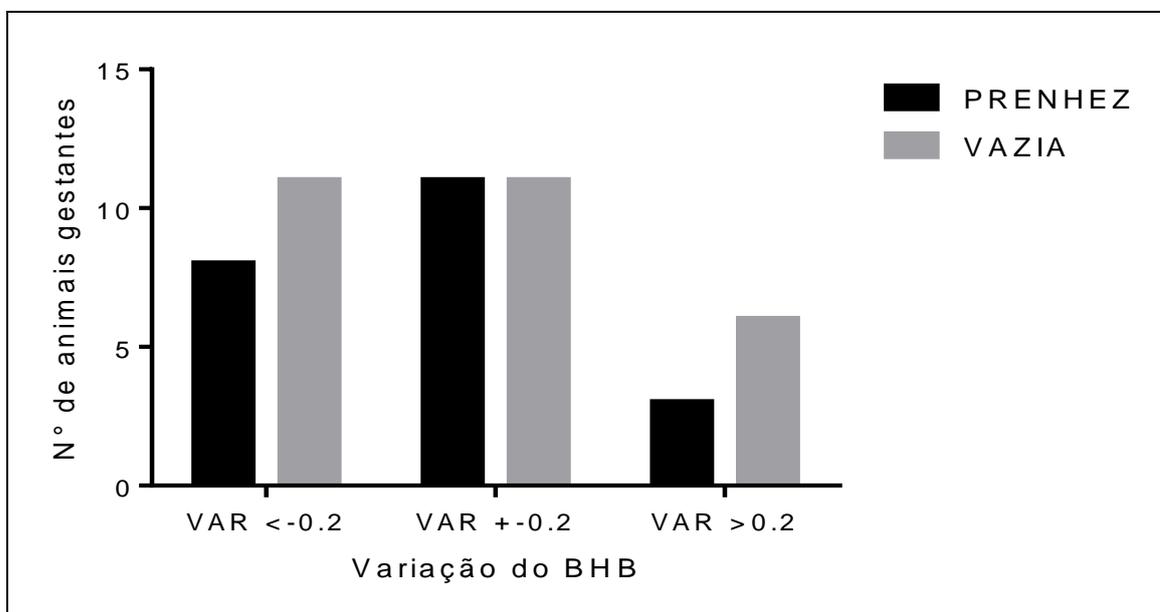


Figura 1. Representação gráfica da variação do BHB do D0 até o D30 e da taxa de prenhez. No eixo x estão representados os grupos de variação do BHB. No eixo y o número de animais gestantes.

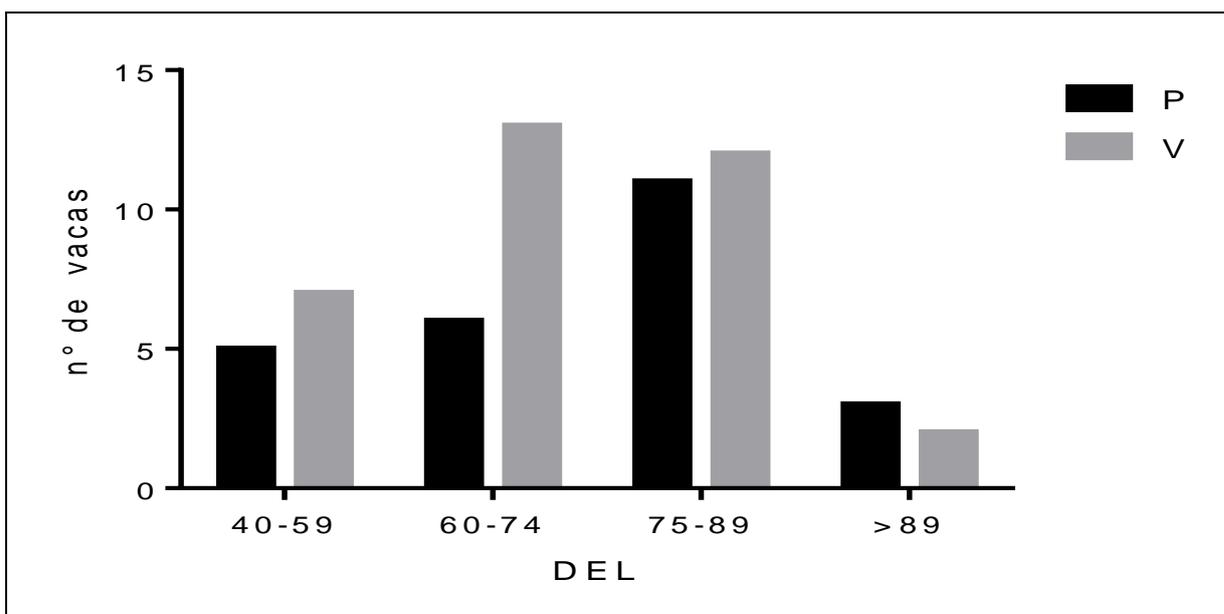


Figura 2. Dias Em Lactação e número de prenhez. No eixo x estão representados os grupos de DEL. No eixo y o número de animais prenhez.

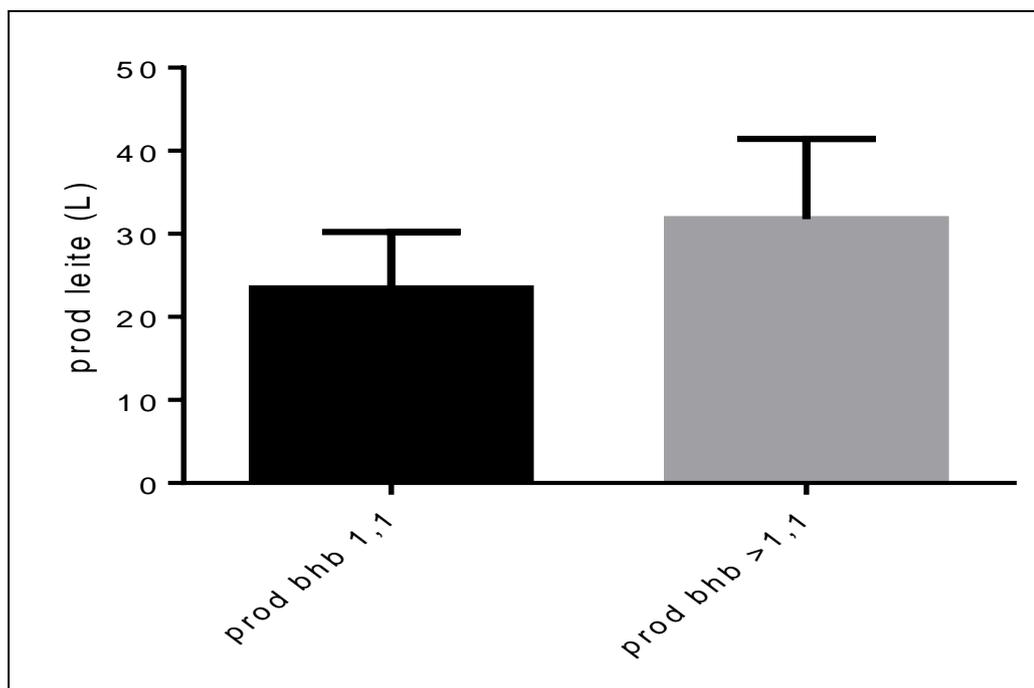


Figura 3. Relação do BHB com a produção leiteira. No eixo x estão os grupos de BHB, $\leq 1,1$ mmol/L e $>1,1$ mmol/L. No eixo Y a produção de leite em litros.

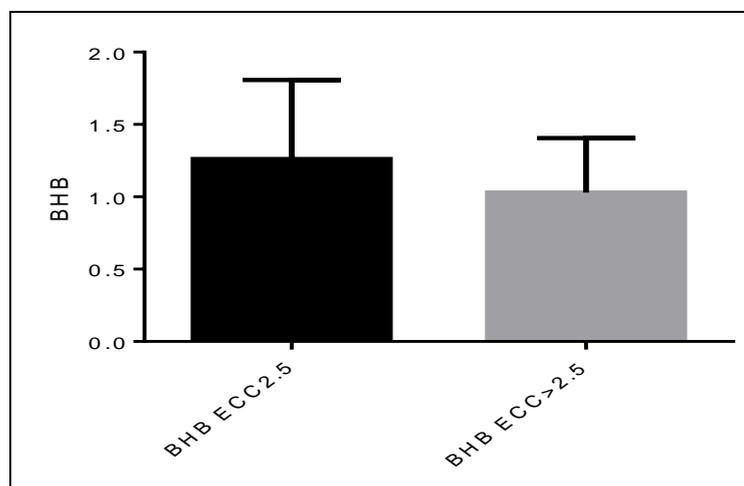


Figura 4. Escore de Condição Corporale índice de BHB. No eixo x estão os grupos de ECC, $\leq 2,5$ e $>2,5$. No eixo y está o índice de BHB.

Referências

- BAIRD, D. G. Primary ketosis in the high producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention and outlook. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 65, p. 1-10, 1982.
- BEITZ, D. C. Metabolismo dos Carboidratos. *In*: REECE, W. O. **Dukes, fisiologia dos animais domésticos**, 12th ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014, cap. 30, p. 462-475.
- COMPTON, C. *et al.* Prevalence of subclinical ketosis in mainly pasture-grazed dairy cows in New Zealand in early lactation. **N. Z. Vet. J.** v. 62, p. 30-37, 2014.
- DRACKLEY, J. K.; OVERTON, T.R.; DOUGLAS, G. N. Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**. v. 84, p. 100-112, 2001.
- DUFFIELD, T. F. *et al.* Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. **Journal of Dairy Science**. v. 92, p. 571–580, 2009.
- DUFFIELD, T. F. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. **Veterinary clinics of north america: food animal practice**, v. 16, n. 2, p. 231-253, 2000.
- EMERY R.S., *et al.* Detection, occurrence, and prophylactic treatment of borderline ketosis with propylene glycol feeding. **Journal of Dairy Science**. v. 47, p. 1074-1079, 1964.
- FERGUSON, J. D.; GALLIGAN, D. T.; THOMSEN, N. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**. v. 77, p. 2695-2703, 1994.
- FOURICHON, C., H. *et al.* 1999. Effects of disease on milk production in the dairy cow: A review. **Prev. Vet. Med.** v. 41, p. 1–35, 1999.
- GARRO, C. J.; MIAN, L.; ROLD, M. C. Subclinical ketosis in dairy cows: prevalence and risk factors in grazing production system. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. v. 98, p. 838–844, 2014.
- GILLUND, P., *et al.* Body condition related to ketosis and reproductive performance in Norwegian dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 84, p.1390–1396, 2001.
- GONZÁLEZ, F. H. D. *et al.* **Uso de perfil metabólico no diagnóstico de doenças metabólico-nutricionais em ruminantes**. *In*:_____.Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre: UFRGS, 2000. p. 89-106.
- GONZÁLEZ, F. H. D.; CORRÊA, M. N.; SILVA, S. C. Transtornos do metabolismo dos lipídeos. *In*:_____.**Transtornos metabólicos nos animais domésticos**. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2014, cap. 6, p. 155-176.
- GORDON, J. L.; LEBLANC, S. J.; DUFFIELD, T. F. Ketosis Treatment in Lactating Dairy Cattle. **Vet. Clin. Food Anim.**, v. 29, p. 433-445, 2013.

HAGHIGHAT-JAHRAMI, M.; NAHID, S. Incidence of subclinical ketosis in dairy cows in fars province of Iran and reproductive performance in early lactation period. **Asian Journal of Animal Sciences**. v. 5, p. 158–161, 2011.

INGVARTSEN, K. L.; ANDERSEN, J. B. Integration of metabolism and intake regulation: A review focusing on periparturient animals. **Journal of Dairy Science**. v. 83, p.1573-1597, 2000.

LEAN, I. J. *et al.* Bovine ketosis: a review. **Vet. Bull.**, v. 62. p. 1–14, 1992.

LOPEZ, H.; SATTER, L. D.; WILTBANK, M. C. Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. **Anim. Reprod. Sci.** v. 81, p.209-223, 2004

NIELEN, M. *et al.* Evaluation of two cowside tests for the detection of subclinical ketosis in dairy cows. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 35, p. 229-232, 1994.

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

PURSLEY, J.R.; MEEZ, M.O.; WILTBANK, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF₂, and GnRH. **Theriogenology**. New York, v. 44, p 915-923, 1995.

RABOISSON, D.; MOUNIÉ, M.; MAIGNÉ, E. Diseases, reproductive performance, and changes in milk production associated with subclinical ketosis in dairy cows: A meta-analysis and review. **J. Dairy Sci.** v. 97, p. 7547–7563, 2014.

RADOSTITS, O. M. *et al.* Doenças metabólicas. *In:_____*. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos, e equinos**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016, cap. 28, p.1275 -1329.

ROCHE, J. R. *et al.* Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. **Journal of Dairy Science**. v. 92, p. 5769–5801, 2009.

RUTHERFORD, A. J.; OIKONOMOU, G.; SMITH, R. F. The effect of subclinical ketosis on activity at estrus and reproductive performance in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**. v. 99, p. 1-8, 2016.

SAKHA, M., *et al.* Bovine subclinical ketosis in dairy herds in Iran. **Veterinary Research Communications**. v. 31, p.673–679, 2007.

SEEGERS, H.; FOURICHON, C.; BEAUDEAU, F. Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. **Vet. Res.** v. 34, p. 475–491, 2003.

SHIN, Eun-Kyung *et al.* Relationships among ketosis, serum metabolites, body condition, and reproductive outcomes in dairy cows. **Theriogenology**. Korea, 84, p.252-260, 2015.

STEVENSON, J.S. *et al.* Treatment of Cycling and Noncycling Lactating Dairy Cows with Progesterone During Ovsynch. **Journal of Dairy Science**. v. 89, p. 2567–2578, 2006.

URIBE, H. A. *et al.* Genetic parameters for common health disorders of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 421–430, 1995.

WALSH, R. B., *et al.* The Effect of subclinical ketosis in early lactation on reproductive performance of postpartum dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 90, p. 2788–2796, 2007.