

UNIVERSIDADE FEDERAL DE RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**RELAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SANGUÍNEA DE CÁLCIO, FÓSFORO E
MAGNÉSIO COM A DIFERENÇA CÁTION-ÂNION DA DIETA EM VACAS
LEITEIRAS EM PERIPARTO**

Jerbeson Hoffmann da Silva

Porto Alegre

2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DE RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**RELAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SANGUÍNEA DE CÁLCIO, FÓSFORO E
MAGNÉSIO COM A DIFERENÇA CÁTION-ÂNION DA DIETA EM VACAS
LEITEIRAS EM PERIPARTO**

Autor: Jerbeson Hoffmann da Silva

Dissertação apresentada como
requisito parcial para obtenção
do grau de Mestre em Ciências
Veterinárias

Orientador: Félix González

Porto Alegre

2022

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

CIP - Catalogação na Publicação

Da Silva, Jerbeson Hoffmann
RELAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SANGUÍNEA DE CÁLCIO,
FÓSFORO E MAGNÉSIO COM A DIFERENÇA CÁTION-ÂNION DA
DIETA EM VACAS LEITEIRAS EM PERIPARTO / Jerbeson
Hoffmann Da Silva. -- 2022.
66 f.
Orientador: Felix Gonzalez.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa
de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto
Alegre, BR-RS, 2022.

1. DCAD. 2. Hipocalcemia . 3. Vacas leiteiras. 4.
Pontos de corte. 5. Valores de referência. I.
Gonzalez, Felix, orient. II. Título.

Jerbeson Hoffmann da Silva

RELAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SANGUÍNEA DE CÁLCIO, FÓSFORO E
MAGNÉSIO COM A DIFERENÇA CÁTION-ÂNION DA DIETA EM VACAS
LEITEIRAS EM PERIPARTO

Aprovado em 25 de fevereiro de 2022

APROVADO POR:

Prof. Dr. Félix González

Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dr. Carlos Bondan (Universidade de Passo Fundo)

Membro da Comissão

Prof. Dra. Marta Leal (Universidade Federal de Santa Maria)

Membro da Comissão

Prof. Dra. Vivian Fischer (Universidade Federal do Rio Grande do Sul)

Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, à minha família, pelo apoio incondicional que me permitiu chegar até aqui.

Aos amigos, que estiveram junto comigo nesta caminhada.

Ao meu orientador, Félix González, pelo apoio e aprendizados proporcionados.

À Consultoria Laore e seus produtores assistidos, por terem aberto as portas para este projeto e permitido que ele fosse realizado, em especial os veterinários André Caldato e Paulo Cezar Pavinato Júnior e os produtores Zigomar Bissotto, Tobias de Martini, Maurício Coppe, Rudimar Moresco, Douglas Silva da Rosa e Vagner Lorençon.

À Carin Fernanda Ponath, pelo auxílio da etapa de campo, por sempre ter me apoiado e me encorajado durante esta trajetória.

À Laura Victoria Quishpe Contreras, pela realização das análises laboratoriais, apoio e amizade.

À educação pública, acessível e de qualidade, para que cada vez esteja mais fortalecida e continue transformando as realidades das pessoas e países.

“Há uma força motriz mais poderosa que o vapor, a eletricidade e a energia atômica: a vontade.”

— Albert Einstein.

**RELAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SANGUÍNEA DE CÁLCIO, FÓSFORO E
MAGNÉSIO COM A DIFERENÇA CÁTION-ÂNION DA DIETA EM VACAS
LEITEIRAS EM PERIPARTO**

Autor: Jerbeson Hoffmann da Silva

Orientador: Félix González

RESUMO

O período transição impõe um grande desafio na homeostase do cálcio em bovinos leiteiros, sendo que a hipocalcemia subclínica tem sido correlacionada à maior incidência de enfermidades infecciosas e metabólicas no pós-parto. A grande variabilidade na calcemia que ocorre entre indivíduos, sistemas de produção e entre regiões geográficas, dificultam o estabelecimento de um ponto de corte preciso e explica a variabilidade nos resultados de pesquisas desenvolvidas em diferentes países. Atualmente, a principal estratégia de prevenção e controle de hipocalcemia clínica e subclínica consiste na utilização de dietas aniônicas no pré-parto. Apesar de seus efeitos benéficos na calcemia no pós-parto estarem bem estabelecidos, poucos são os estudos avaliando seus efeitos nos níveis de fósforo e magnésio, minerais cujo metabolismo é intimamente relacionado ao cálcio. O objetivo deste trabalho foi identificar a influência da DCAD sobre os níveis séricos de cálcio (total, total corrigido e ionizado), fósforo e magnésio, de vacas leiteiras no período do periparto, na região do Planalto Médio no estado do Rio Grande do Sul, bem como, observar sua interação com as variáveis paridade e tempo, além de propor intervalos de referência regionais para estes minerais. Foram utilizadas 56 vacas de raça Holandesa (18 primíparas e 38 múltiparas), em 6 propriedades comerciais de produção intensiva. Amostras de sangue para determinação dos níveis séricos de cálcio total e ionizado, fósforo, magnésio e albumina foram coletadas nos momentos -7, +7, +14 e +28 dias em relação ao parto; amostras de urina foram coletadas no momento -7 para mensuração do pH urinário e a amostras pareadas de alimento foram coletadas em cada visita para determinação dos níveis de cálcio, fósforo,

magnésio e DCAD. Os valores de cálcio total foram corrigidos de acordo com a concentração de albumina sérica. Houve correlação positiva entre a DCAD pré-parto e cálcio total ($p = 0,02$) e cálcio total corrigido ($p = 0,01$) no momento -7, não ocorrendo interação entre a DCAD pré-parto e o cálcio nos demais momentos avaliados. Observou-se correlação negativa entre a DCAD pré-parto e os níveis de magnésio no momento -7 em relação à data do parto ($p = 0,02$), porém esta correlação não ocorreu nos demais períodos avaliados. Não houve influência da DCAD na fosfatemia em nenhum período avaliado. Além disso, foi possível observar que a definição de prevalência de transtornos subclínicos de cálcio, fósforo e magnésio podem variar em função do ponto de corte utilizado, além de ocorrer grande variabilidade nas concentrações séricas dos minerais de acordo com a paridade (primípara ou múltípara) e do momento da coleta. Os resultados podem fornecer valores de referência dos minerais estudados para rebanhos leiteiros no Rio Grande do Sul.

Palavras chave: perfil mineral, hipocalcemia subclínica, metabolismo, DCAD.

**RELATIONSHIPS AMONG BLOOD CALCIUM, PHOSPHORUS AND MAGNESIUM
CONCENTRATION AND THE DIETARY CATION-ANION DIFFERENCE IN
PERIPARTUM DAIRY COWS**

Author: Jerbeson Hoffmann da Silva

Advisor: Félix González

ABSTRACT

The transition period imposes a great challenge for calcium homeostasis in dairy cattle. Subclinical hypocalcemia has been correlated with a higher incidence of infectious and metabolic diseases in the postpartum period. Serum calcium levels results varies considerable between individuals, production systems and geographic regions, making it difficult to establish a precise cut-off point for calcium. This partially explains the discordances among studies carried out in different regions. Currently, anionic salts are the main strategy for control and prevention of clinical and subclinical hypocalcemia during the transition period. Although its beneficial effects on postpartum calcemia are well established, few studies have evaluated the effects of DCAD on serum levels of P and Mg, minerals whose metabolism is closely related to Ca. The aim of this study was to evaluate the influence of DCAD on serum levels of calcium (total and ionized), phosphorus and magnesium in dairy cows during the peripartum period, at the Middle Plateau region of Rio Grande do Sul (Southern Brazil), as well as to observe its interaction with parity and time of observation, in addition to propose a regional reference interval for these minerals. A total of 56 Holstein cows (18 primiparous and 38 multiparous), from 6 different farms, with confined production systems, were enrolled in this study. Blood samples were collected to determine the serum levels of total and ionized calcium, phosphorus, magnesium and albumin at -7, +7, +14 and +28 days in relation to parturition; urine samples were collected at day -7, for urinary pH measurement and paired food samples were collected at each visit for determination of calcium, phosphorus, magnesium and DCAD levels. Values of total calcium were corrected according to serum albumin concentration. There was a positive correlation between prepartum DCAD and total Ca ($p = 0.02$) and corrected total Ca ($p = 0.01$) at time -7. No interactions occurred between prepartum DCAD and calcium values in the other periods evaluated. A negative correlation between prepartum DCAD and magnesium levels occurred at time -7 in relation to parturition ($p = 0.02$), but this correlation did not occur in the other periods evaluated. There was no influence of prepartum DCAD on phosphatemia in any period evaluated. Furthermore, the results suggest that the definition of prevalence for subclinical disorders of calcium, phosphorus and magnesium may vary depending on the cutoff point used. In addition, the study shows that the serum concentration of these minerals is greatly influenced by factors such as parity and timing of analysis. The

results can provide reference values of the studied minerals for dairy herds in Rio Grande do Sul.

Keywords: mineral profile, subclinical hypocalcemia, metabolism, DCAD.

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES

DCAD	Diferença cátionica-aniônica da dietética
DHCC	1,25-dihidroxi-colecalciferol
iCa	Cálcio ionizável
PTH	Paratormônio
tCa	Cálcio total

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Médias marginais estimadas de vacas leiteiras no Rio Grande do Sul (multíparas ●, primíparas ▲) e intervalos de confiança assintóticos 95% (τ, \perp) de cálcio (A), cálcio ionizado (B), cálcio corrigido (C), fósforo (D), magnésio (E) e relação cálcio:fósforo (F), em diferentes períodos com relação ao parto (-7, 7, 14 e 28 dias)37.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Mediana, limite inferior e superior de cálcio total, cálcio total corrigido, cálcio ionizado, fósforo, magnésio e relação cálcio:fósforo de vacas no Rio Grande do Sul em diferentes períodos com relação ao parto (-7, 7, 14 e 28 dias)	38
Tabela 2 – Correlação de Spearman (<i>rho</i>) entre a diferença cátion-ânion da dieta (DCAD) no período pré-parto (-7 dias) com os níveis séricos de cálcio total, cálcio total corrigido, cálcio ionizado, fósforo, magnésio e da relação Ca:P em diferentes períodos em relação ao parto (-7, 7, 14 e 28 dias)	39
Tabela 3 – Comparação de prevalência de hipocalcemia subclínica (HSC) em vacas no Rio Grande do Sul utilizando valores de cálcio total (tCa), cálcio total corrigido (tCa corrigido) e cálcio ionizável (iCa), utilizando três pontos de corte distintos.	43
Tabela 4 – Média, mediana e intervalo de confiança (95%) para DCAD (mEq/100 g/MS) durante os diferentes períodos em relação ao parto (-7, 7, 14 e 28 dias) em vacas leiteiras no Rio Grande do Sul.....	50

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVOS	19
2.1 Objetivo geral	19
2.2 Objetivos específicos	19
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
3.1 Metabolismo do cálcio.....	20
3.2 Metabolismo do magnésio	21
3.3 Metabolismo do fósforo	22
3.4 DCAD e suas bases fisiológicas	23
3.5 Conceitos práticos para a utilização do DCAD em dietas de bovinos leiteiros	25
3.6 Relação do DCAD com o metabolismo do cálcio, fósforo e magnésio	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5. CONCLUSÕES	63
REFERENCIAS	64

1. INTRODUÇÃO

Os minerais participam de maneira direta ou indireta de inúmeros processos biológicos essenciais à vida. O periparto é o período mais crítico na homeostase dos macrominerais cálcio, fósforo e magnésio. O crescimento fetal final, a colostrogênese e lactogênese inicial, impõem desafios substanciais neste controle (BAUMAN & CURRIE, 1980). Quantidades inadequadas destes minerais podem resultar em diminuição da ingestão de alimentos, redução da motilidade ruminal e intestinal, baixa produtividade, aumento da suscetibilidade a ocorrências de doenças infecciosas e metabólicas e, em maior gravidade, levar o animal ao decúbito e até mesmo a morte, visto que são essenciais para a função muscular e nervosa (GOFF & HORST, 1997; GOFF, 2018).

Neste contexto, os transtornos relacionados ao metabolismo do cálcio são os mais prevalentes. REINHARDT et al. (2011) relata prevalência de 5% de hipocalcemia clínica e 30 a 70% de hipocalcemia subclínica em rebanhos leiteiros nos EUA. Porém, existe grande divergência entre os relatos de prevalência ao redor do mundo. Por exemplo, ROCHE et al. (2003), na Nova Zelândia, relata valores de 33% para hipocalcemia subclínica, FIORENTIN et al (2018), no Brasil, 17,1% e VENJAKOB et al. (2018), na Alemanha, relata 44,3%.

Em partes, estas divergências podem ser atribuídas aos diferentes pontos de corte propostos na literatura (LAGER & JORDAN, 2012) e aos diferentes momentos (dias no pós-parto) em que estas análises são realizadas em cada estudo (CHAPINAL et al., 2011; NEVES et al., 2018), pois a calcemia no pós-parto é muito dinâmica e seus valores variam de acordo com o tempo.

Além disso, diversos outros fatores influenciam na calcemia no periparto de bovinos leiteiros, como fatores nutricionais, como os níveis de cálcio (WIGGERS et al., 1975), fósforo (LEAN et al., 2006), magnésio (DEGARIS & LEAN, 2008) e DCAD (OETZEL et al., 1988) da dieta ingerida no pré-parto, fatores individuais como idade (REINHARDT et al., 2011), raça (LEAN et al., 2006) e produtividade (GOFF & HORST, 1997), fatores ambientais, como temperatura, amplitude térmica, pluviosidade e sistema de produção utilizado, como sistema a pasto ou confinado (ROCHE & BERRY, 2006; SABORÍO-MONTERO et al., 2017). Além disso, discute-se a possibilidade que ocorra uma forte influência regional nos níveis normais e anormais destes minerais, o que poderia dificultar a extrapolação de resultados de pesquisa gerados em regiões geográficas distintas.

A cadeia produtiva do leite no Rio Grande do Sul é complexa, ocorrendo grande variação entre propriedades quanto ao sistema de produção utilizado, número de animais e área disponível, volume de leite produzido, instalações utilizadas e nível tecnológico empregado (EMATER, 2019). Esta heterogeneidade dificulta a extrapolação de resultados de pesquisas realizados em outros locais, como os dos sistemas de produção a pasto da Nova Zelândia ou Austrália e dos sistemas confinados dos EUA e Canadá (SABORÍO-MONTERO et al., 2017), porque cada um destes sistemas possui características próprias e muito distintas. Isso pode explicar a grande variação de resultados encontrados na literatura sobre os pontos de corte para diferenciar estados fisiológicos e patológicos relacionados com o perfil metabólico de bovinos leiteiros. Com isso, é muito importante a regionalização dos estudos que tentam gerar valores de referência, para maior confiabilidade nos resultados.

A ausência de pontos de corte precisos e que levem em consideração características individuais como raça, paridade (primípara ou múltipara) e fase do ciclo lactacional (pré-parto, pós-parto inicial e pós-parto tardio), ou diferenças regionais, como clima e sistema de produção utilizado, dificultam o diagnóstico preciso de transtornos metabólicos subclínicos e conseqüentemente, da elaboração de programas de prevenção e controle mais eficazes.

Atualmente, a utilização de dietas aniônicas no pré-parto consiste na principal estratégia adotada em rebanhos leiteiros para prevenção de distúrbios na homeostasia do cálcio. Estas dietas fornecem uma maior proporção de ânions, principalmente Cl^- e SO_4^{2-} e em comparação com os cátions, como Na^+ e K^+ . O resultado é um estado de acidose metabólica leve (LEAN et al., 2006), que causa aumento da mobilização do cálcio ósseo e da sensibilidade dos tecidos ao PTH. No momento do parto, os mecanismos de mobilização, absorção e manutenção da homeostase do cálcio já estarão ativados, impedindo grandes flutuações na calcemia nestes animais (GOFF, 2014; SABORÍO-MONTERO et al., 2017).

Apesar da relação entre DCAD pré-parto e a calcemia pós-parto já estar bem estabelecida, poucos são os estudos que avaliam influência do DCAD em outros minerais, como o fósforo e o magnésio. Estes minerais possuem seu metabolismo intimamente relacionado ao cálcio (LEAN et al., 2006; SHAHZAD et al., 2008; RAZZAGHI et al., 2012), sendo possível que DCAD também possa influenciar, de maneira direta ou indireta, os níveis séricos destes minerais no pós-parto (GOMIDE et al., 2004).

O estudo da relação dos minerais cálcio, fósforo e magnésio com a diferença cátion-

ânion da dieta (DCAD) no periparto, permite entender melhor a dinâmica destes elementos, e identificar onde ocorrem os pontos de quebra na sua homeostase. Quando aplicado em nível regional, a pesquisa permite entender estas variações naquele local, os fatores responsáveis por estas variações, a definição de valores de referência mais precisos e, finalmente, o estabelecimento de estratégias de controle e prevenção mais eficientes e aplicáveis para cada realidade.

O objetivo deste trabalho é descrever a influência do DCAD dietético nos níveis de cálcio, fósforo e magnésio no sangue durante o periparto de vacas leiteiras na região do Planalto Médio do estado do Rio Grande do Sul, bem como propor intervalos de referência regionais para estes metabólitos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Determinar a correlação de cálcio, fósforo e magnésio no sangue com a diferença cátion-ânion da dieta durante o periparto de vacas leiteiras na região do Planalto Médio no estado do Rio Grande do Sul.

2.2 Objetivos específicos

- Identificar a variação de cálcio (total, total corrigido e ionizado), fósforo, magnésio e albumina em soro sanguíneo na semana anterior ao parto e durante a primeira, segunda e quarta semana pós- parto.
- Identificar o intervalo de confiança de cálcio, fósforo e magnésio e comparar com os intervalos de referência propostos na literatura em regiões distintas.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Metabolismo do cálcio

Em uma vaca leiteira com peso aproximado de 600 kg, existe no plasma cerca de 3g de cálcio e 8 a 9 g no restante do fluido extracelular. No fluido presente nos canalículos ósseos é possível encontrar um valor adicional de 6 a 15 g, o qual depende do pH metabólico (GOFF, 2004), sendo maior em estados de acidose e menor na alcalose metabólica. Para que as funções vitais do organismo se mantenham adequadas, a calcemia na espécie bovina precisa ser mantida entre 8,5-10 mg/dL (GOFF, 2008; LAGER & JORDAN, 2012).

Porém, devido ao crescimento fetal final, início da colostrogênese e lactogênese inicial, a demanda por cálcio aumenta substancialmente. Para cada litro de colostro produzido são necessários cerca de 2,2 g de cálcio e para cada litro de leite produzido, são necessários 1,1 g de cálcio. Com isso, uma vaca recém-parida utiliza facilmente 20 a 30 g de cálcio apenas para a produção de colostro. Isso faz com que seja necessária uma mobilização das reservas de cálcio do organismo metabólica (GOFF, 2004).

Quando ocorre uma diminuição na calcemia, inicia-se a produção de PTH pelas paratireoides, o qual provoca aumento da resorção do cálcio ósseo, além de aumentar a reabsorção de cálcio a nível renal. Além disso, o PTH estimula a produção renal de 1,25-dihidroxi-colecalciferol (DHCC), a qual gera um aumento da absorção intestinal de cálcio. Com esses mecanismos ativados, a homeostasia do cálcio é mantida de forma adequada. Porém, existem diversos fatores que influenciam na correta ativação destes mecanismos homeostáticos (GOFF, 2018).

Estudos sugerem que dietas com baixos níveis de cálcio no pré-parto, impediriam variações significativas da calcemia no pós-parto de bovinos leiteiros (LEAN et al., 2006; ROCHE & BERRY, 2006; GOFF, 2014). O efeito protetivo dos

baixos níveis de cálcio na dieta pré-parto já foi demonstrado (WIGGERS et al., 1975) e justifica-se fisiologicamente porque o balanço levemente negativo de cálcio estimula a liberação de PTH, ativando os mecanismos de ressorção osteoclástica óssea e a produção de DHCC nos rins (GOFF, 2000). No momento do parto, os osteoclastos ósseos já estarão ativos e os enterócitos já serão estimulados pelo DHCC para absorver eficientemente o cálcio dietético, compensando a drenagem de cálcio pela glândula mamária (GOFF, 2018).

Além disso, diversos outros fatores influenciam na calcemia no periparto de bovinos leiteiros, como diferença cátion-ânion da dieta (DCAD) (OETZEL et al., 1988), níveis de magnésio (DEGARIS e LEAN, 2008) e de fósforo (LEAN et al., 2006) ingeridos na dieta pré-parto; fatores individuais como idade (REINHARDT et al., 2011), raça (GOFF et al., 1995), produtividade (GOFF e HORST, 1997) e até fatores ambientais, como temperatura, amplitude térmica e pluviosidade (SABORÍO-MONTERO et al., 2017), além do sistema de produção utilizado, como sistema a pasto ou confinado (ROCHE, 2003).

3.2 Metabolismo do magnésio

Na vaca adulta (peso de 500 kg), existem cerca de 0,7 g de magnésio no sangue, 2,5 g nos demais fluidos extracelulares, 70 g no fluido intracelular e 170 g na matriz óssea. Os níveis plasmáticos de magnésio devem ser mantidos entre 1,7 e 2,4 mg/dL, sendo que a manutenção de níveis adequados, neste caso, depende primariamente da ingestão e absorção do magnésio dietético (GOFF, 2004).

A secreção de PTH aumenta a reabsorção de magnésio em nível renal. Porém se a ingestão de magnésio for baixa ou a sua absorção no rúmen estiver prejudicada, não existirá magnésio suficiente para atingir o limiar renal. Portanto, é possível afirmar que os níveis de magnésio plasmáticos são totalmente dependentes da ingestão de magnésio dietético. Ao contrário do cálcio, o tecido ósseo não é uma fonte de magnésio que pode ser utilizada em períodos de deficiência deste mineral. A própria secreção de PTH é estimulada pela diminuição dos níveis de cálcio e não do magnésio (GOFF, 2018).

A ingestão de magnésio pode afetar o balanço de outros macrominerais, como o cálcio por exemplo. De acordo com LEAN et al. (2006), dietas pobres em magnésio no pré-parto podem resultar em falhas na homeostase do cálcio no pós-parto. O magnésio afeta o metabolismo do cálcio de duas formas principais: diminuindo a secreção e reduzindo a sensibilidade dos tecidos alvo do PTH. O magnésio é necessário para a liberação de PTH pela paratireoide e participa da síntese de enzimas intracelulares como a adenilciclase e a fosfolipase C, que sinalizam a expressão de receptores de PTH no tecido ósseo e renal (GOFF, 2000). Dessa forma, o magnésio é um importante fator relacionado às variações da calcemia em bovinos leiteiros (DEGARIS e LEAN, 2008).

3.3 Metabolismo do fósforo

Na vaca adulta (peso corpóreo de 500 kg), existem cerca de 1 a 2 g de fósforo inorgânico no plasma, 4 a 7 g no fluido extracelular e 155 g no fluido intracelular. A fosfatemia é mantida entre 4 a 8 mg/dL, possuindo uma relação inversa ao cálcio, ou seja, quando um aumenta o outro diminui e vice-versa. Os níveis de fósforo não são mantidos em limites estreitos como os de cálcio, podendo chegar a 50% dos valores normais. No final da gestação, estima-se que a vaca perca cerca de 10 g de fósforo/dia somente para o crescimento fetal. Com o início da lactação, estima-se que ocorra a perda de 1 g de fósforo para cada litro de leite produzido (GOFF, 2004).

Uma das principais vias de excreção do fósforo é através da saliva, a qual pode drenar cerca de 30 a 90 g do pool extracelular por dia. O fósforo presente na saliva é importante no tamponamento e crescimento dos microrganismos presentes no rúmen. Um mínimo de 5 g de fósforo é perdido por dia através das fezes e cerca de 2 a 12 g/dia na urina metabólica (NRC, 2001; GOFF, 2004).

Com o aumento do PTH, eleva-se a ressonância óssea de fósforo além estimular a produção de DHCC renal, o qual estimula a absorção intestinal de fósforo. Porém, o PTH aumenta a excreção de fósforo na saliva e diminui a reabsorção de fósforo urinário. Com isso, vacas com hipocalcemia podem apresentar também hipofosfatemia. É importante lembrar que o PTH é secretado primariamente em resposta a hipocalcemia e não a hipofosfatemia (GOFF, 2018).

A elevada ingestão de fósforo no periparto pode resultar em falhas na homeostase do cálcio. Apesar de ser um ânion e acidificar o pH metabólico, a hiperfosfatemia reduz a calcemia (LEAN et al., 2006), por meio da inibição da enzima alfa-hidroxilase renal, a qual converte a 25-OH-vitamina D em DHCC (MASUYAMA et al., 2000). O resultado é a diminuição da absorção intestinal de cálcio (GOFF, 2014). Níveis de fósforo na dieta não devem superar as recomendações do NRC para vacas em estágio final de gestação, o que geralmente corresponde a aproximadamente 0,35% da MS (NRC, 2001). Cerca de 80 g de fósforo por dia aumenta o risco de hipocalcemia, níveis próximos de 50 g por dia são seguros e em torno de 35 g por dia, contribuem na prevenção deste transtorno metabólico (GOFF, 2014). A avaliação dos níveis de fósforo na dieta pré-parto é necessária para o entendimento das variações na calcemia no periparto.

3.4 DCAD e suas bases fisiológicas

A diferença catiônica-aniônica da dieta (DCAD) considera principais cátions (Na^+ e K^+) e ânions (Cl^- e S^-) dietéticos, capazes de alterar o pH metabólico. Uma dieta rica em cátions ou catiônica eleva o pH metabólico e, quando rica em ânions ou aniônica, diminui ou acidifica o mesmo (GOFF, 2014). A utilização de dietas aniônicas no pré-parto e catiônicas no pós-parto objetivam otimizar determinados processos fisiológicos nos animais (BLOCK, 1994).

O DCAD possui sua base na teoria dos íons fortes sobre o balanço ácido-básico. Neste modelo teórico, o pH plasmático seria determinado por quatro fatores independentes entre si, que são a pressão parcial de gás carbônico, a solubilidade plasmática do gás carbônico (dependente da temperatura), a concentração plasmática total de tampões fracos não-voláteis (principalmente albumina, globulina e fosfato) e, por último, a diferença entre os íons fortes, neste caso entre os cátions Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , NH_4^+ ; e os ânions Cl^- e S^{2-} . É justamente este último mecanismo que manipulação do DCAD dietético busca modificar (CONSTABLE, 1999).

Os ânions e os cátions fortes modificam o pH metabólico através de sua interação com os sistemas tampão do organismo, função renal e respiração celular e,

não através da geração de resíduos ácidos ou alcalinos. BLOCK (1994) cita como exemplo, que tanto o HPO_4^{2-} quanto a NH_4^+ atuam como doadores de prótons (alcalinogênicos) mesmo um sendo um ânion e o outro um cátion. Da mesma forma, os cátions Na^+ e K^+ e os ânions Cl^- e S^{2-} , não geram resíduos ácidos ou alcalinos, mas sim, alteram o pH metabólico de maneira indireta, pois as flutuações na concentração destes íons afetam o funcionamento dos mecanismos controle ácido-básico.

Foi observado que animais com acidose metabólica apresentavam maiores níveis plasmáticos de cálcio ionizado, bem como, calciúria (PHILLIPO et al. 1994). Vacas alimentadas com dietas aniônicas possuem maiores concentrações de hidroxiprolina, indicando maior mobilização de cálcio ósseo. Estas dietas também aumentam a concentração de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, importante para a maior mobilização e absorção de cálcio. A acidose metabólica é capaz de mobilizar mais cálcio dos ossos de forma independente do PTH e também em conjunto com este hormônio (LEAN & DEGARIS, 2010).

De maneira simplificada, dietas com DCAD negativo (ricas em Cl^- e S^{2-}) resultam em aumento das concentrações de H^+ e conseqüentemente, redução do pH metabólico. Uma das respostas fisiológicas do organismo é aumentar a liberação de HCO_3^- e Ca^{2+} ósseo na tentativa de neutralizar o aumento de componentes ácidos, resultando também em aumento do cálcio ionizado plasmático. A acidose metabólica gera também alterações conformacionais nos receptores de PTH nos tecidos, aumentando a afinidade do PTH no tecido ósseo e renal por exemplo. No osso, a maior ação do PTH resulta em melhora nos mecanismos de resorção óssea. No rim, ocorre maior produção de DHCC, que causa aumento na absorção intestinal de cálcio. Isso tudo resulta em maior disponibilidade de cálcio ativo nestes animais, além do fato que no momento do parto os mecanismos homeostáticos da calcemia já estarão ativos, dificultando a ocorrência grandes flutuações plasmáticas deste mineral (LEAN & DEGARIS, 2010; GOFF, 2018).

3.5 Conceitos práticos para a utilização do DCAD em dietas de bovinos leiteiros

Diversas equações já foram propostas para a determinação do DCAD dietético (CHARBONNEAU et al., 2006). Com o passar do tempo estas formulas foram sendo simplificadas e alguns elementos como o cálcio, fósforo e magnésio foram desconsiderados, utilizando apenas os cátions Na e K e os ânions Cl e S, devido a sua maior eficiência em prever a eficácia dos tratamentos. Posteriormente, estudos demonstram que o S possuía apenas 60% da capacidade acidificante do Cl (OETZEL et al., 1991; TUCKER et al., 1991; GOFF et al., 2004), fazendo com que as algumas fórmulas do DCAD desconsiderem também o enxofre, devido a maior correlação do DCAD com o íon cloreto por si só. Abaixo estão demonstradas algumas das fórmulas propostas para determinação do DCAD:

$$\text{DCAD (meq)} = (\text{Na} + \text{K} + \text{Ca} + \text{Mg}) - (\text{Cl} + \text{SO}_4 + \text{H}_2\text{PO}_4 + \text{HPO}_4)$$

$$\text{DCAD (meq)} = (\text{Na} + \text{K} + \text{Ca} + \text{Mg}) - (\text{Cl} + \text{S} + \text{P})$$

$$\text{DCAD (meq)} = (\text{Na} + \text{K} + 0,15 \text{ Ca} + 0,15 \text{ Mg}) - (\text{Cl} + 0,20 \text{ S} + 0,30 \text{ P})$$

$$\text{DCAD (meq)} = (\text{Na} + \text{K}) - (\text{Cl} + \text{S})$$

$$\text{DCAD (meq)} = (\text{Na} + \text{K}) - (\text{Cl} + 0,6 \text{ S})$$

$$\text{DCAD (meq)} = (\text{Na} + \text{K}) - (\text{Cl})$$

De forma consensual, o DCAD é expresso em miliequivalente (mEq/kg ou mEq/100 g) da matéria seca (MS), como representado abaixo:

$$\text{DCAD (mEq/100 g)}: [(\% \text{Na}/0,023 + \% \text{K}/0,039)] - [(\% \text{Cl}/0,0355 + \% \text{S}/0,016)]$$

É importante lembrar que não existem alimentos naturais verdadeiramente catiônicos ou aniônicos. O cálculo do DCAD leva em consideração apenas os íons que causam maiores alterações nos mecanismos de controle ácido-básico. Se todos os cátions e ânions presentes no alimento fossem considerados, o resultado da equação seria zero, visto que os alimentos foram um dia tecidos vivos e, os tecidos vivos são eletricamente neutros (BLOCK, 1994).

A maior parte dos componentes utilizados na dieta de vacas leiteiras possuem DCAD positivo. Para que seja possível obter uma dieta com DCAD negativa, normalmente é necessário a utilização de sais aniônicos. Dietas com DCAD negativo (aniônicas) favorecem vacas durante o período pré-parto (OETZEL et al., 1988). Já

as dietas com DCAD positivo (catiônicas) favorecem vacas durante o período pós-parto (SANCHEZ & BEEDE, 1996).

Os sais possuem em sua composição sais de cátions fortes, tais como o CaCl_2 , CaSO_4 , MgCl_2 , MgSO_4 , NH_4Cl e $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ou ainda, ácidos dos ânions HCl e H_2SO_4 . Os cátions cálcio, magnésio e NH_4 são absorvidos em menor extensão que os ânions Cl e S e com isso ocorre acidificação metabólica. Alguns sais como NaCl e KCl não possuem o mesmo efeito, pois os cátions e ânions são absorvidos na mesma extensão e, conseqüentemente, o efeito é nulo (LEAN & DEGARIS, 2010). A quantidade de sais aniônicos na dieta deve ser limitada pois são pouco palatáveis e, em excesso, podem reduzir o consumo de alimento (PATEL et al., 2011).

Atualmente, não existe consenso na literatura sobre a faixa de DCAD ideal para vacas leiteiras durante o pré-parto, sendo sugerido um valor de aproximadamente $-10 \text{ meq}/100 \text{ g}$ de MS, ou que pelo menos ocorra uma redução de cerca de $20 \text{ meq}/100 \text{ g}$ de MS entre a dieta de vacas secas e pré-parto. Já está bem estabelecido que os melhores resultados ocorrem quando o DCAD dietético pré-parto é negativo, mas restrição de cátions neste período é benéfica mesmo que a faixa ideal não seja atingida. Sabe-se que o DCAD possui uma relação linear com o risco hipocalcemia e, portanto, qualquer redução do DCAD irá diminuir proporcionalmente as chances de ocorrência deste evento (LEAN et al., 2019; SANTOS et al., 2019).

O monitoramento do pH urinário é um método prático e barato para avaliar a eficácia da dieta aniônica em acidificar o pH metabólico, permitindo que sejam realizados ajustes nos níveis de suplementação de sais aniônicos na dieta pré-parto. Em dietas catiônicas, que são as dietas ideais para vacas no período pós-parto, o pH urinário geralmente está acima de 8,2. Em dietas em que a quantidade de cátions é limitada, ocorrerá uma leve redução da alcalinidade da urina, sendo o seu pH igual ou um pouco menor de 7,8. Para prevenção da ocorrência de hipocalcemia, é necessário obter uma faixa de pH entre 6,2 a 6,8 na raça holandesa e 5,8 a 6,3 na raça Jersey. Para obtenção destes valores, é fundamental a utilização de sais aniônicos na dieta (LEAN et al. 2006; SANTOS et al., 2019).

O fornecimento excessivo de sais aniônicos causa redução do consumo de

matéria seca como consequência da acidificação excessiva e da baixa palatabilidade destes compostos. Neste caso, o pH urinário é geralmente menor que 5,5 (ZIMPEL et al., 2018). Após a realização de ajustes na dieta pré-parto, o pH urinário poderá ser checado novamente após 48 horas da realização de ajustes na dieta pré-parto, pois esse o tempo necessário para que ocorra mudanças no grau de acidificação da urina. Considera-se como ideal que esta aferição seja realizada em cerca de 6 a 9 horas após a oferta de dieta fresca no cocho, pois isso também pode ser uma fonte de variação nos resultados (LEAN & DEGARIS, 2010; PATEL et al., 2011).

Não existe consenso sobre qual o período ideal de manutenção das vacas na dieta pré-parto. Sabe-se que períodos tão curtos como 4 a 5 dias já podem ser suficientes para obter os efeitos desejados das dietas aniônicas. É proposto também que a utilização destas dietas por tempo muito prolongado, possa ser prejudicial para o indivíduo, podendo inclusive favorecer a ocorrência de hipocalcemia. Dessa forma, a recomendação mais utilizada atualmente é mudar os animais para o lote pré-parto com cerca de 21 dias para a data estimada do parto. Assim, os animais com certeza irão consumir a dieta durante o tempo mínimo proposto para a obtenção dos resultados desejados e, da mesma forma, dificilmente irão consumir a dieta por tempo demasiadamente prolongado (LEAN & DEGARIS, 2010; LEAN et al., 2019; SANTOS et al., 2019).

3.6 Relação do DCAD com o metabolismo de cálcio, fósforo e magnésio

Apesar de relação entre DCAD pré-parto e a calcemia pós-parto já estar bem estabelecida, poucos são os estudos que avaliam influência do DCAD nos níveis séricos de outros minerais como o fósforo e o magnésio, cujo metabolismo é estritamente relacionado com o cálcio (GOMIDE et al., 2004). De acordo com RAZZAGHI et al. (2012), a utilização de um DCAD negativo (-100 mEq/kg DM) aumentou a concentração plasmática de cálcio e magnésio no pré-parto em comparação com um DCAD positivo (+100 mEq/kg DM). Neste caso, as concentrações plasmáticas de fósforo não sofreram alterações significativas. Segundo este mesmo autor, o DCAD no pré-parto não influenciou nas concentrações

de magnésio e fósforo no pós-parto. Outros autores argumentam que aumento das concentrações plasmáticas de magnésio em animais submetidos a dietas pré-parto com DCAD negativo pode ser atribuído ao maior nível deste mineral na própria dieta e não a uma possível influência na homeostasia do magnésio (LEAN et al., 2006; LI et al., 2008). Quanto ao fósforo, estudos sugerem que não ocorre influência significativa do DCAD nos níveis plasmáticos de fosfatemia no pré e pós-parto (SHAHZAD et al., 2008; WU et al., 2008). Portanto, ainda não existe consenso na literatura a respeito deste tópico.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e discussão estão apresentados como artigo científico, formatado de acordo com as normas técnicas da revista *Ciência Rural*. As tabelas foram inseridas no texto para facilitar a leitura, e serão realocadas no momento da submissão à revista.

1 Original paper.

2

3

4 **Relationships among blood calcium, phosphorus and magnesium concentration and the**

5 **dietary cation-anion difference in peripartum dairy cows**

6 **Relação da concentração sanguínea de cálcio, fósforo e magnésio com a diferença cátion-**

7 **ânion da dieta em vacas leiteiras em periparto**

8 Jerbeson Hoffmann da Silva¹, Laura Victoria Quishpe Contreras¹, Carin Fernanda Ponath³,

9 Carlos Bondan^{2*}, Márcio da Costa Machado², Félix González¹

10 **ABSTRACT**

11 The transition period, which comprises three weeks before and three weeks after calving, poses a
12 great challenge in the homeostasis of calcium, phosphorus and magnesium in dairy cattle.

13 Significant decrease of the serum levels of these minerals have been correlated with a higher
14 incidence of illness during the postpartum period. Nowadays, anionic salts used during the
15 prepartum period remains the main prevention strategy for clinical and subclinical hypocalcemia.

16 Although its beneficial effects on calcemia are well established, few studies have evaluated the
17 effects on anionic salts on the serum levels of phosphorus and magnesium, minerals whose
18 metabolism is closely related to calcium. The dietary cation-anion difference (DCAD) can affect
19 the metabolism of these three minerals, constituting an important parameter to be considered
20 together. The aim of this study was to evaluate the influence of DCAD on serum levels of
21 calcium (total and ionized), phosphorus and magnesium in dairy cows during the peripartum
22 period, at the Middle Plateau region of Rio Grande do Sul (Southern Brazil), as well as to

23 observe its interaction with parity and time of observation, in addition to propose a regional

¹Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

²Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, UPF, Passo Fundo, RS.

Email: cbondan@upf.br *Corresponding author.

³Médica Veterinária autônoma.

1 reference interval for these minerals. A total of 56 Holstein cows (18 primiparous and 38
2 multiparous), from 6 different farms, with confined production systems, were enrolled in this
3 study. Blood samples were collected to determine the serum levels of total and ionized calcium,
4 phosphorus, magnesium and albumin at -7, +7, +14 and +28 days in relation to parturition; urine
5 samples were collected at day -7, for urinary pH measurement and paired food samples were
6 collected at each visit for determination of calcium, phosphorus, magnesium and DCAD levels.
7 Values of total calcium were corrected according to serum albumin concentration. There was a
8 positive correlation between prepartum DCAD and total Ca ($p = 0.02$) and corrected total Ca ($p =$
9 0.01) at time -7. No interactions occurred between prepartum DCAD and calcium values in the
10 other periods evaluated. A negative correlation between prepartum DCAD and magnesium levels
11 occurred at time -7 in relation to parturition ($p = 0.02$), but this correlation did not occur in the
12 other periods evaluated. There was no influence of prepartum DCAD on phosphatemia in any
13 period evaluated. Furthermore, the results suggest that the definition of prevalence for subclinical
14 disorders of calcium, phosphorus and magnesium may vary depending on the cutoff point used.
15 In addition, the study shows that the serum concentration of these minerals is greatly influenced
16 by factors such as parity and timing of analysis. The results can provide reference values of the
17 studied minerals for dairy herds in Rio Grande do Sul.

18 *Keywords: reference ranges, DCAD, subclinical hypocalcemia.*

19

20 **RESUMO**

21 O período de transição, que compreende três semanas antes e três semanas após o parto,
22 impõe um grande desafio na homeostase do cálcio, fósforo e magnésio em bovinos leiteiros.

1 Diminuição significativa nos níveis séricos desses minerais têm sido correlacionadas com uma
2 maior incidência de enfermidades no pós-parto. Atualmente, a utilização de sais aniônicos no pré-
3 parto continuam sendo a principal estratégia de prevenção e controle de hipocalcemia clínica e
4 subclínica neste período. Apesar de os efeitos benéficos deste tratamento na calcemia durante o
5 pós-parto estarem bem estabelecidos, poucos são os estudos que avaliam seus efeitos nos níveis
6 séricos de fósforo e magnésio, minerais cujo metabolismo está intimamente relacionado com o do
7 cálcio. A diferença cátion-ânion da dieta (DCAD) pode afetar o metabolismo desses três
8 minerais, constituindo um importante parâmetro a ser considerado conjuntamente. O objetivo
9 deste trabalho foi identificar a influência da DCAD sobre os níveis séricos de cálcio (total e
10 ionizado), fósforo e magnésio, de vacas leiteiras no período do periparto, na região do Planalto
11 Médio no estado do Rio Grande do Sul, bem como, observar sua interação com as variáveis
12 paridade e tempo, além de propor intervalos de referência regionais para estes minerais. Foram
13 utilizadas 56 vacas de raça Holandesa (18 primíparas e 38 multíparas), em 6 propriedades
14 comerciais de produção intensiva. Amostras de sangue para determinação dos níveis séricos de
15 cálcio total e ionizado, fósforo, magnésio e albumina foram coletadas nos momentos -7, +7, +14
16 e +28 dias em relação ao parto; amostras de urina foram coletadas no momento -7 para
17 mensuração do pH urinário e a amostras pareadas de alimento foram coletadas em cada visita
18 para determinação dos níveis de cálcio, fósforo, magnésio e DCAD. Os valores de cálcio total
19 foram corrigidos de acordo com a concentração de albumina sérica. Houve correlação positiva
20 entre a DCAD pré-parto e cálcio total ($p = 0,02$) e cálcio total corrigido ($p = 0,01$) no momento -
21 7, não ocorrendo interação entre a DCAD pré-parto e o cálcio nos demais momentos avaliados.
22 Observou-se correlação negativa entre a DCAD pré-parto e os níveis de magnésio no momento -7
23 em relação a data do parto ($p = 0,02$), porém esta correlação não ocorreu nos demais períodos
24 avaliados. Não houve influência da DCAD na fosfatemia em nenhum período avaliado. Além

1 disso, foi possível observar que a definição de prevalência de transtornos subclínicos de cálcio,
2 fósforo e magnésio podem variar em função do ponto de corte utilizado, além de ocorrer grande
3 variabilidade nas concentrações séricas dos minerais de acordo com a paridade (primípara ou
4 múltípara) e do momento da coleta. Os resultados podem fornecer valores de referência dos
5 minerais estudados para rebanhos leiteiros no Rio Grande do Sul.

6 *Palavras-chave: intervalos de referência, DCAD, hipocalcemia subclínica.*

7

8 **INTRODUÇÃO**

9 O período de transição de bovinos leiteiros, definido como o período compreendido de
10 três semanas antes a três semanas depois do parto, é marcado por uma série de adaptações
11 homeorréticas relacionadas à mobilização e à partição de nutrientes, que buscam atender o
12 aumento dos requerimentos nutricionais decorrentes do crescimento fetal final, colostrogênese e
13 lactogênese inicial (BAUMAN & CURRIE, 1980). Neste período, por vezes, ocorrem
14 flutuações significativas nos níveis plasmáticos dos minerais cálcio, fosforo e magnésio, que
15 podem resultar na ocorrência de transtornos clínicos ou subclínicos (GOFF, 2018).

16 Com relação ao cálcio, relata-se uma prevalência de hipocalcemia clínica (HC) em torno
17 de 5% do rebanho e, de hipocalcemia subclínica (HSC) em até 70% dos animais avaliados
18 (REINHARDT et al., 2011). Apesar da ausência de sinais clínicos visíveis, indivíduos com HSC
19 apresentam maiores taxas de transtornos metabólicos e infecciosos relacionados com o pós-
20 parto, tais como metrites, mastites e retenção de placenta, redução dos índices produtivos e
21 reprodutivos, além de maior risco de descarte ao final da lactação (NEVES et al., 2018).

22 A principal estratégia de controle e prevenção em transtornos da homeostasia do cálcio

1 consiste na utilização de sais aniônicos no pré-parto (LEAN et al.,2019). Esses sais são ricos
2 em ânions, principalmente cloreto (Cl^-) e sulfato (SO_4^-) e pobre em cátions, como sódio (Na^+) e
3 potássio (K^+). O resultado é um estado de acidose metabólica leve (LEAN et al., 2006), que
4 promove mobilização do cálcio ósseo e melhora a sensibilidade dos tecidos ao paratormônio
5 (PTH). Como resultado do efeito metabólico dos sais aniônicos, no momento do parto, os
6 mecanismos de mobilização, absorção e manutenção da homeostase do cálcio já estarão
7 ativados, impedindo grandes flutuações na calcemia destes animais (GOFF, 2014; SABORÍO-
8 MONTERO et al., 2017). Mediante a utilização de sais aniônicos, é possível diminuir a
9 diferença cátion-ânion da dieta (DCAD), a qual tem sido relacionada com a incidência de
10 transtornos da calcemia no pós-parto, de forma que valores menores ou até negativos de DCAD
11 resultam em menor incidência de hipocalcemia clínica ou subclínica (LEAN et al., 2019;
12 SANTOS et al.,2019).

13 Entretanto, não existe consenso sobre a faixa de DCAD ideal para vacas leiteiras durante o
14 pré-parto que resulte eficiente na prevenção de hipocalcemia, sendo sugerido uma DCAD de
15 aproximadamente -10 meq/100 g de MS da dieta por cerca de 21 dias. Ainda, sabe-se que a
16 DCAD negativa possui uma relação linear com o risco de hipocalcemia de forma que, qualquer
17 redução da DCAD irá diminuir as chances de ocorrência deste transtorno, mesmo que os níveis
18 considerados ideais de DCAD não sejam atingidos (LEAN et al., 2019; SANTOS et al., 2019).
19 Apesar de já estar bem estabelecida a relação entre DCAD no pré-parto e a calcemia no pós-
20 parto, poucos são os estudos que avaliam a influência da DCAD sobre outros minerais como o
21 fósforo e o magnésio, cujo metabolismo está relacionado com o metabolismo do cálcio (LEAN
22 et al., 2006; LI et al., 2008; SHAHZAD et al., 2008; WU et al., 2008; RAZZAGHI et al., 2012).

23 Além da DCAD (OETZEL et al., 1988), diversos fatores influenciam a calcemia no
24 periparto de bovinos leiteiros, como os níveis de magnésio (DEGARIS & LEAN, 2008) e de

1 fósforo (LEAN et al., 2006) ingeridos na dieta durante o pré-parto, incluindo fatores individuais
2 como idade (REINHARDT et al., 2011), raça (LEAN et al., 2006), produtividade (GOFF &
3 HORST, 1997), fatores ambientais, como temperatura, amplitude térmica e pluviosidade, além do
4 sistema de produção utilizado, como sistema a pasto ou confinado (ROCHE & BERRY, 2006;
5 SABORÍO-MONTERO et al., 2017) e momento da coleta de amostras de sangue em relação ao
6 parto (CHAPINAL et al., 2011; LAGER & JORDAN, 2012; NEVES et al., 2018). Isso pode
7 explicar a grande variabilidade dos resultados na literatura envolvendo os níveis sanguíneos de
8 cálcio determinantes na hipocalcemia subclínica, não existindo consenso sobre o melhor ponto de
9 corte para diferenciar estados fisiológicos e patológicos, além do melhor momento no periparto
10 para realizar este tipo de avaliação.

11 Além disso, a complexidade do sistema produtivo do leite no estado do Rio Grande do Sul
12 dificulta a utilização de resultados de pesquisa realizados em rebanhos ou regiões geográficas
13 distintas, de forma que a aplicação de um trabalho de pesquisa em nível regional pode ser
14 necessário para entender estas variações naquele local específico, os fatores responsáveis por
15 estas variações, a definição de valores de referência mais precisos e, finalmente, o
16 estabelecimento de estratégias de controle e prevenção mais eficientes e aplicáveis para cada
17 realidade.

18 O objetivo deste trabalho é descrever a influência do DCAD sobre os níveis de cálcio,
19 fósforo e magnésio no sangue durante o periparto de vacas leiteiras na região do Planalto Médio
20 do estado do Rio Grande do Sul, bem como propor intervalos de referência regionais para estes
21 minerais.

22

23 **MATERIAIS E MÉTODOS**

1 Todos os procedimentos envolvendo os animais utilizados neste trabalho foram aprovados
2 pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob o
3 protocolo nº 29966 e autorizados pelos responsáveis dos rebanhos.

4 *Animais e período de estudo*

5 Foram utilizadas 56 vacas da raça Holandesa híidas (18 primíparas e 38 multíparas),
6 pertencentes a seis diferentes propriedades comerciais da bacia leiteira da região do Planalto do
7 Rio Grande do Sul, durante a estação fria do ano (outono-inverno). De acordo com dados do
8 Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), entre os meses de março e julho de 2021, a
9 temperatura horária média do ar (bulbo seco) registrada na região do estudo foi de 16,3°C
10 (temperatura mínima de -1,1 e máxima de 33°C), a umidade média foi de 77,5% e a
11 pluviosidade média mensal foi de 123,4 mm.

12 Os animais eram manejados sob sistema intensivo, do tipo *compost barn* (4
13 propriedades) e *free stall* (2 propriedades). A média de vacas em lactação nas seis propriedades
14 era de 105, com sistemas de duas ou três ordenhas diárias (3 propriedades para cada sistema) e
15 produtividade média no pico de lactação de 39,7 litros/vaca/dia. Todas as propriedades avaliadas
16 faziam uso de sais aniônicos durante o pré-parto, com a seguinte composição: Ca 12%, P 1,25%,
17 Mg 7%, Na 2%, Cl 13,8%, S 4%, Cu 0,045, Zn 0,16%, Mn 0,08%, I 0,0018%, Se 0,0013%, Co
18 0,003%, vitamina A 300.000 UI/kg, vitamina D3 60.000 UI/kg, vitamina E 6.750 UI/kg e
19 monensina sódica 750 mg/kg.

20 Os animais selecionados foram acompanhados no período de -7 até +28 dias em relação
21 à data de parto.

1 *Escore de condição corporal, produtividade e registro de enfermidades*

2 Em todos os animais foi realizada avaliação do escore de condição corporal (ECC; escala de 1-5;
3 EDMONSON et al., 1989), durante o pré-parto (-7) e o pós-parto (+28). Foi estimada a produção
4 leiteira no pico lactacional, através da mensuração da produtividade diária dos animais, com
5 auxílio da plataforma Ideagri (Belo Horizonte, MG). Foi registrada a ocorrência de enfermidades,
6 diagnosticadas pelos médicos veterinários responsáveis pela sanidade das fazendas leiteiras.

7 *Coleta, processamento e análise das amostras*

8 Foram coletadas amostras de sangue através da punção dos vasos coccígeos nos períodos
9 mencionados (-7, +7, +14 e +28), mediante sistema *vacutainer* sem anticoagulante usando tubos
10 com gel acelerador da coagulação. As amostras foram enviadas imediatamente ao laboratório e
11 centrifugadas a 1.000 g por 10 minutos e o soro armazenado em duplicata a -20°C até sua
12 análise. No soro foram analisados os níveis de cálcio total, fósforo, magnésio e albumina
13 mediante espectrofotometria com analisador bioquímico automático (CM200, Wiener lab,
14 Argentina) utilizando kits reagentes comerciais (Labtest, Brasil). Foi dosado cálcio ionizado
15 mediante o método NM-BAPTA utilizando aparelho Cobas 8000 (BOURGUIGNON et al.,
16 2013). Os valores de albumina (g/L) foram utilizados para calcular o cálcio total corrigido,
17 mediante a seguinte fórmula:

18
$$\text{Ca corrigido} = \text{Ca obtido} + 0,08 * (38 - \text{albumina obtida})$$

19 Foram coletadas amostras de urina no dia -7 do pré-parto através de massagem na região
20 perineal, para mensuração imediata do pH urinário com um pHmetro portátil (PH-1900 + EPC-
21 70, Instrutherm).

1 Foram coletadas amostras do alimento total dos lotes pré e pós-parto (-7, +7, +14 e +28), sendo
2 que para cada amostra de sangue houve uma amostra de alimento correspondente. As amostras de
3 alimento foram realizadas em diversos pontos e homogeneizadas para formar um *pool*, do qual se
4 retirava uma amostra final. Esta era devidamente identificada e congelada para posterior
5 mensuração dos níveis de cálcio, fósforo, magnésio e cálculo da DCAD, através de
6 espectrometria de emissão óptica por plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). A seguinte
7 fórmula de DCAD foi utilizada para o cálculo:

$$8 \text{ DCAD (mEq/100 g): } [(\%Na^+/0,023 + \%K^+/0,039) - (\%Cl^-/0,0355 + \%S^{2-}/0,016)]$$

9 Dos 56 animais utilizados, 48 tiveram todas as análises completadas (-7, +7, +14 e +28), e em 8
10 animais houve falha em pelo menos um momento avaliado, devido a ocorrência de hemólise.
11 Estas amostras foram retiradas do estudo, mantendo-se os demais momentos avaliados, a fim de
12 manter um número amostral adequado.

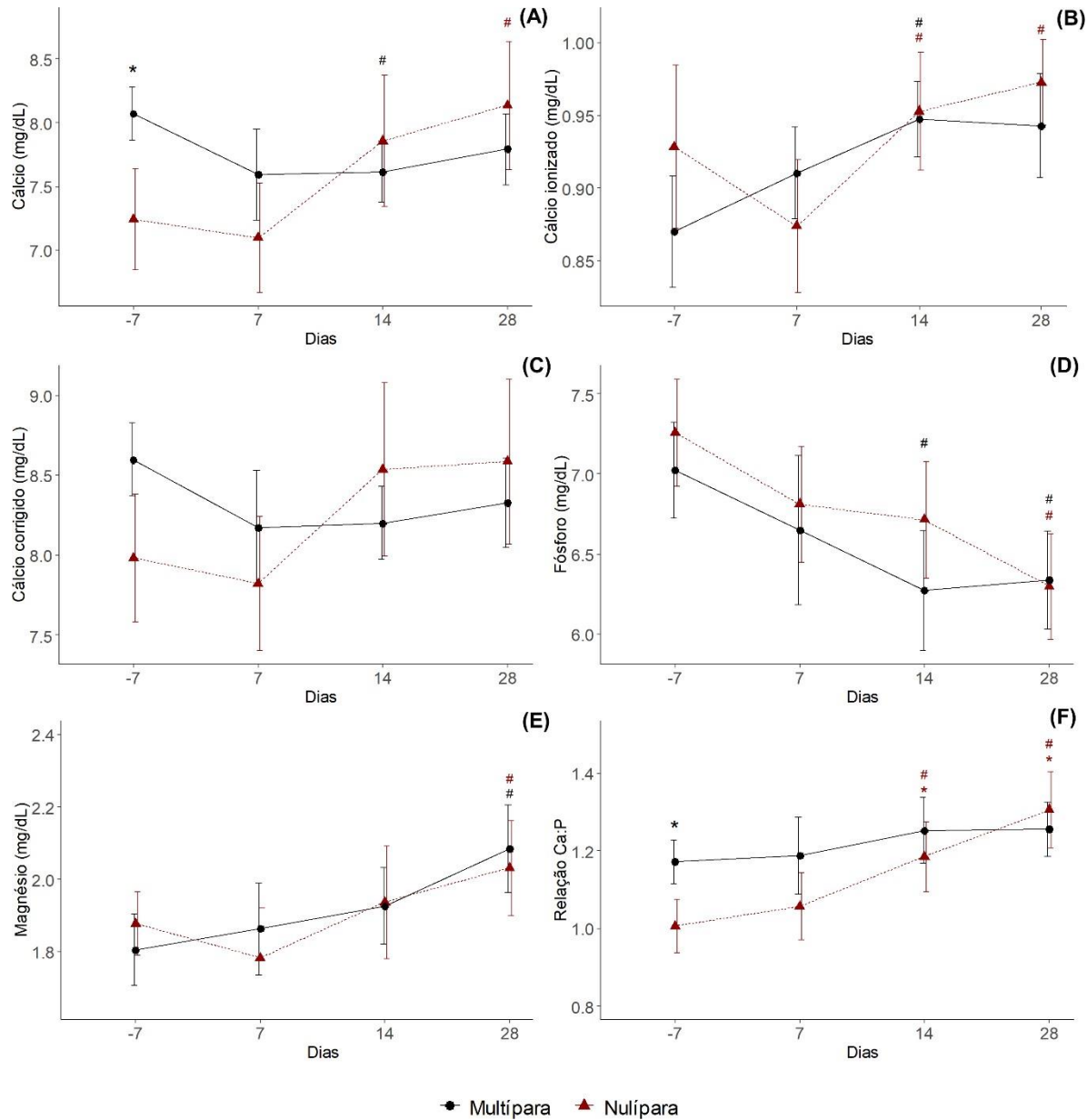
13 *Análise estatística*

14 A determinação do intervalo de referência com base nos períodos de tempo analisados foi
15 realizada através do suplemento para Excel Reference Value Advisor (freeware v2.1;
16 <http://www.biostat.envt.fr/spip/spip.php?article63>). Com este suplemento foram identificados
17 valores discrepantes, através dos critérios de Tukey, verificada a normalidade das variáveis,
18 através do teste de Anderson-Darling, calculado o intervalo de confiança (limite de confiança de
19 90%) através de método não paramétrico, quando as variáveis não atenderam os requisitos de
20 normalidade e simetria. A relação entre a DCAD do dia -7 com os níveis de cálcio total, cálcio
21 total corrigido, cálcio ionizado, fósforo, magnésio e relação cálcio:fósforo foi determinada
22 através de correlação de Spearman. Os níveis de cálcio total, cálcio total corrigido, cálcio

1 ionizado, fósforo, magnésio e relação cálcio:fósforo foram analisados como medidas repetidas,
2 empregando o modelo de equação de estimativa generalizada (GEE), incluindo como fatores
3 fixos a paridade (Primípara e Multípara), o período de amostragem (dias -7, 7, 14 e 28) e a
4 interação entre eles. Para cada variável dependente modelada, foram testadas as distribuições
5 gaussiana e gamma, ambas com função de ligação identidade, com melhor convergência e
6 qualidade associada à distribuição gaussiana, identifica através dos menores valores de critério de
7 quasi-verossimilhança sob o modelo de independência (QICc). A comparação por pares
8 empregou as médias marginais estimadas, utilizando o ajuste de multiplicidade de Tukey. Os
9 resultados foram considerações significativamente diferentes com probabilidade ($p < 0,05$). O
10 pacote estatístico R foi utilizado para as análises estatísticas e a composição gráfica.

11 **RESULTADOS**

12 Os níveis séricos de cálcio total (tCa), cálcio total corrigido (tCa corrigido), cálcio
13 ionizado (iCa), fósforo (P), magnésio (Mg) e a relação Ca:P sérica, em novilhas primíparas e em
14 vacas multíparas, e sua variação com a relação temporal (momentos -7, +7, +14 e +28) estão
15 mostrados na Figura 1.



1

2 **Figura 1** – Médias marginais estimadas de vacas leiteiras no Rio Grande do Sul (múltiparas ●, primíparas
 3 ▲) e intervalos de confiança assintóticos 95% (τ, \pm) de cálcio (A), cálcio ionizado (B), cálcio corrigido
 4 (C), fósforo (D), magnésio (E) e relação cálcio:fósforo (F), em diferentes períodos com relação ao parto (-
 5 7, 7, 14 e 28 dias).

6

7 Na Tabela 1, estão representados a mediana e os valores mínimos e máximos para cada
 8 metabólito analisado. Para obter um maior número amostral, foram consideradas as categorias

1 primíparas e multíparas em conjunto, a fim de propor um intervalo de referência regional, para
 2 bovinos leiteiros em transição na região de interesse.

3 **Tabela 1** – Mediana, limite inferior e superior de cálcio total, cálcio total corrigido, cálcio ionizado,
 4 fósforo, magnésio e relação cálcio:fósforo de vacas no Rio Grande do Sul em diferentes períodos com
 5 relação ao parto (-7, 7, 14 e 28 dias).

Período	Parâmetro	Mediana	Lim. mín. (IC 90%)	Lim. máx. (IC 90%)
-7 dias	Cálcio total (mg/dL)	7,90	5,44 (5,2-6,32)	8,98 (8,87-8,99)
	Cálcio total corrigido (mg/dL)	8,30	5,95 (5,43-6,64)	10,44 (9,86-11,44)
	Cálcio ionizado (mmol/L)	0,90	0,61 (0,60-0,65)	1,11 (1,06-1,13)
	Fósforo (mg/dL)	7,13	5,30 (5,18-5,63)	9,30 (8,29-9,48)
	Magnésio (mg/dL)	1,82	1,06 (0,98-1,41)	2,25 (2,21-2,25)
	Relação cálcio: fósforo	1,13	0,72 (0,71-0,80)	1,57 (1,38-1,57)
7 dias	Cálcio total (mg/dL)	7,46	5,00 (4,89-6,10)	10,55 (9,09-10,76)
	Cálcio total corrigido (mg/dL)	8,25	5,98 (5,43-6,64)	10,48 (10,01-11,44)
	Cálcio ionizado (mmol/L)	0,90	0,64 (0,59-0,76)	1,10 (1,06-1,11)
	Fósforo (mg/dL)	6,52	4,00 (3,77-4,88)	10,51 (8,64-11,05)
	Magnésio (mg/dL)	1,85	1,04 (1,03-1,16)	2,59 (2,34-2,61)
	Relação cálcio: fósforo	1,07	0,68 (0,67-0,80)	1,99 (1,66-2,08)
14 dias	Cálcio total (mg/dL)	7,58	5,42 (5,24-6,31)	9,81 (9,07-9,95)
	Cálcio total corrigido (mg/dL)	8,23	6,05 (5,43-6,67)	10,47 (9,86-11,44)

	Cálcio ionizado (mmol/L)	0,96	0,77 (0,76-0,83)	1,13 (1,06-1,14)
	Fósforo (mg/dL)	6,29	4,55 (4,51-4,81)	8,57 (8,05-8,63)
	Magnésio (mg/dL)	1,89	1,38 (1,36-1,48)	2,80 (2,47-2,91)
	Relação cálcio:fósforo	1,27	0,75 (0,74-0,83)	1,93 (1,60-2,04)
	Cálcio total (mg/dL)	7,93	5,76 (5,67-6,44)	10,54 (9,61-10,99)
	Cálcio total corrigido (mg/dL)	8,26	6,11 (5,43-6,67)	10,60 (10,21-11,44)
28 dias	Cálcio ionizado (mmol/L)	0,96	0,72 (0,72-0,79)	1,19 (1,10-1,20)
	Fósforo (mg/dL)	6,28	4,41 (4,29-4,88)	8,48 (7,50-8,76)
	Magnésio (mg/dL)	2,04	1,45 (1,44-1,52)	2,92 (2,62-2,94)
	Relação cálcio:fósforo	1,26	0,85 (0,84-0,93)	1,80 (1,63-1,81)

1
2 Além disso, avaliou-se a correlação entre os níveis de DCAD durante o pré-parto
3 (momento -7), com os níveis sérios de tCa, tCa corrigido, iCa, fósforo, magnésio e a relação
4 Ca:P no momentos -7, 7, 14 e 28 dias (Tabela 2).

5 **Tabela 2** – Correlação de Spearman (*rho*) entre a diferença cátion-ânion da dieta
6 (DCAD) no período pré-parto (-7 dias) com os níveis séricos de cálcio total, cálcio
7 total corrigido, cálcio ionizado, fósforo, magnésio e da relação Ca:P em diferentes
8 períodos em relação ao parto (-7, 7, 14 e 28 dias).

Período	Parâmetro	DCAD (mEq/100 g/MS)	
		<i>rho</i>	<i>p</i>
		-7 dias	
- 7 dias	Cálcio total (mg/dL)	0,31	0,021
	Cálcio total corrigido (mg/dL)	0,33	0,010
	Cálcio ionizado (mg/dL)	0,19	0,159
	Fósforo (mg/dL)	-0,17	0,205

	Magnésio (mg/dL)	-0,29	0,028
	Relação cálcio:fósforo	0,25	0,065
7 dias	Cálcio total (mg/dL)	0,10	0,474
	Cálcio total corrigido (mg/dL)	0,08	0,600
	Cálcio ionizado (mg/dL)	0,21	0,137
	Fósforo (mg/dL)	0,06	0,633
	Magnésio (mg/dL)	0,01	0,958
	Relação cálcio:fósforo	-0,01	0,992
	14 dias	Cálcio total (mg/dL)	-0,19
Cálcio total corrigido (mg/dL)		-0,25	0,080
Cálcio ionizado (mg/dL)		0,32	0,021
Fósforo (mg/dL)		-0,15	0,291
Magnésio (mg/dL)		0,10	0,486
Relação cálcio:fósforo		0,03	0,831
28 dias		Cálcio total (mg/dL)	0,24
	Cálcio total corrigido (mg/dL)	0,15	0,300
	Cálcio ionizado (mg/dL)	0,19	0,160
	Fósforo (mg/dL)	0,08	0,567
	Magnésio (mg/dL)	0,01	0,973
	Relação cálcio:fósforo	0,08	0,566

1

2 DISCUSSÃO

3 Neste estudo, determinaram-se os níveis de cálcio total (tCa), cálcio ionizado (iCa) e de
4 cálcio total corrigido pela albumina (tCa corrigido) para a avaliação da calcemia em bovinos
5 leiteiros na região do Planalto Médio do Rio Grande do Sul. A correção do tCa pela albumina é
6 necessária, pois a calcemia pode ser subestimada em indivíduos com hipoalbuminemia (FIGGE

1 et al., 1998). Os resultados de calcemia divergem de outros estudos realizados em regiões
2 geográficas distintas. Além disso, foi possível observar que a paridade (primípara vs. múltipara p
3 $< 0,05$) e o momento de avaliação (dia -7 vs. dia 14, na categoria múltipara $p < 0,05$; e dia 7 vs. dia 28,
4 na categoria primípara $p < 0,05$) são importantes fontes de variabilidade nos resultados, mostrando a
5 necessidade de elaboração de intervalos de referência que considerem essas variáveis. A falta de
6 padronização metodológica quanto ao momento ideal de coleta e a ausência de intervalos de
7 referência que considerem diferenças individuais, de manejo e do ambiente em que o indivíduo
8 está inserido, podem ser responsáveis pela grande variabilidade dos resultados envolvendo a
9 calcemia.

10 Por exemplo, para CHAPINAL et al. (2011) e CHAPINAL et al. (2012) o ponto de corte
11 para cálcio sérico total para determinar hipocalcemia subclínica é de 8,4 mg/dL. ROCHE &
12 BERRY (2006) propuseram o valor de ponto de corte de 8,0 mg/dL de cálcio total. Para JAWOR
13 et al. (2012), o ponto de corte ideal seria 7,5 mg/dL. Sem intervalos de referência mais precisos
14 para cada categoria animal e momento avaliado é difícil interpretar os resultados do perfil
15 metabólico de forma adequada.

16 No sangue, o cálcio pode ser encontrado unido a proteínas como a albumina (cálcio total
17 ou tCa), ou em sua forma livre ou ionizado (iCa) (correspondendo a 40-50% do tCa). O iCa é a
18 forma ativa do mineral, necessária para a realização de diversas funções biológicas (GOFF,
19 2018). Alguns autores propuseram a utilização do iCa para diagnóstico de HSC. Para JAWOR et
20 al. (2012), o ponto de corte para HSC utilizando o iCa é 4,0 mg/dL. No presente trabalho houve
21 influência do tempo e da paridade nos resultados de iCa (dia 7 vs. dia 14 e dia 7 vs. dia 28, na
22 categoria primípara $p < 0,05$; dia -7 vs. dia 14, na categoria múltipara $p < 0,05$). Isso reforça a

1 necessidade de elaboração de intervalos de referência que considerem as variações entre
2 indivíduos, sistemas de produção, status fisiológico, número de lactações e regiões avaliadas.

3 De acordo com FIGGE et al. (1998), os valores de cálcio séricos podem ser subestimados
4 pacientes com hipoalbuminemia, visto que ao menos 50% do cálcio está ligada à albumina na
5 circulação. Devido a isso, tem sido proposto corrigir os valores de cálcio total de acordo com os
6 níveis séricos de albumina. Esta correção é importante, pois os valores de albumina obtidos neste
7 estudo são menores que os intervalos de referência propostos na literatura. Em nosso estudo, os
8 valores médios de albumina foram de $30,7 \pm 3,73$ g/L. LAGER & JORDAN (2012) propuseram
9 como intervalo de referência para albumina, valores entre 40-50 g/L. COZZI et al. (2011),
10 utilizando 740 vacas de raça Holandesa em 33 rebanhos na Itália, propõem um intervalo de
11 albumina de 33-41 g/L. Com isso, 72,5% dos indivíduos no presente estudo estariam abaixo do
12 limite proposto. Para fazer uma comparação com outros estudos publicados no Rio Grande do
13 Sul, utilizando apenas vacas de raça Holandesa múltiparas, GONÇALVES et al. (2015),
14 encontraram valores médios de albumina de $27 \pm 3,9$ g/L, FACCIO-DEMARCO et al. (2019) de
15 $29 \pm 4,7$ g/L, MONTAGNER et al. (2017) de $27,3 \pm 6,5$ e KRAUSE et al. (2014) de $23,8 \pm 1,8$
16 g/L. Fica claro que a utilização de valores de cálcio corrigido para albumina é necessária para
17 estabelecer índices de prevalência de HSC nos rebanhos da região estudada.

18 Diversos fatores podem explicar a variabilidade nos resultados de albumina na literatura,
19 entre eles, fatores individuais como aptidão (corte ou leite), status fisiológico (lactação e
20 gestação) e produtividade; fatores ambientais, como sistema de manejo utilizado (a pasto ou
21 confinamento); e o status nutricional (nível de ingestão proteica e energética). Além disso,
22 CECCHINATO et al. (2018) sugerem a ocorrência de variações genéticas nos níveis de diversos
23 metabólitos, como a albumina. É possível que a grande variabilidade nos níveis séricos de

1 albumina e sua influência na calcemia, expliquem em parte, a grande divergência nos resultados
2 de calcemia na literatura.

3 Para o cálculo de tCa corrigido, foi utilizado o valor de 38 g/L de albumina como fator de
4 correção. Para efeito de comparação, os resultados de prevalência geral de HSC em nosso estudo,
5 utilizando diferentes pontos de corte de tCa, tCa corrigido e iCa, estão apresentados abaixo
6 (Tabela 3).

7

8 **Tabela 3** – Comparação de prevalência de hipocalcemia subclínica (HSC) em vacas no Rio Grande do Sul
9 utilizando valores de cálcio total (tCa), cálcio total corrigido (tCa corrigido) e cálcio ionizável (iCa),
10 utilizando três pontos de corte distintos.

Ponto de corte	Prevalência de HSC utilizando tCa	Prevalência de HSC utilizando tCa corrigido	Prevalência de HSC utilizando iCa	Referência
8,4 mg/dL	80%	53,5%	-	CHAPINAL et al. (2011) & CHAPINAL et al. (2012)
8,0 mg/dL	64%	33,4%	-	ROCHE & BERRY. (2006)
7,5 mg/dL	40%	17,5%	-	JAWOR et al. (2012)
4,0 mg/dL	-	-	78%	JAWOR et al. (2012)

11

12 Os dados de prevalência de HSC em bovinos leiteiros são muito variáveis. Nos EUA,
13 REINHARDT et al. (2011) relatam uma prevalência de 30 a 70%, dependendo da propriedade
14 avaliada, com um índice médio de 54%. Em rebanhos da Nova Zelândia, ROCHE et al. (2003)
15 relatam 33%. No Brasil, FIORENTIN et al. (2018) relatam 17,1% em rebanhos de Santa
16 Catarina. Na Alemanha, VENJAKOB et al. (2018) relatam 44,3%. Porém, é importante

1 considerar que cada um destes estudos utiliza um ponto de corte diferente, bem como, a avaliação
2 em um momento diferente. A falta de padronização entre estudos e a dificuldade de estabelecer o
3 ponto de corte e o período ideal para considerar um animal com HSC, explica, em parte, a grande
4 variação de prevalência entre os trabalhos de pesquisa.

5 Além disso, os intervalos propostos na literatura geralmente não consideram fatores
6 individuais como raça, aptidão (corte ou leite), paridade (primíparas ou múltíparas),
7 produtividade, status fisiológico (pré-parto, pós-parto inicial e tardio), bem como fatores
8 ambientais como clima, região geográfica, sistema de produção (a pasto, semiconfinado ou
9 confinado), entre outros (KIDA, 2002; QUIROZ-ROCHA et al., 2009; COZZI et al., 2011). Este
10 desafio é ainda maior em se tratando de animais em transição, devido à grande flutuação que
11 ocorre nos níveis séricos de alguns metabólitos. Por isso, LAGER & JORDAN (2012) não
12 recomendam a amostragem entre os dias -3 a +3 para avaliação do perfil metabólico de
13 rebanhos.

14 Os níveis médios de cálcio total e iCa encontrados neste trabalho são menores que alguns
15 outros estudos já realizados. Por definição, hipocalcemia subclínica consiste em um estado onde a
16 calcemia está reduzida, sem progressão para um quadro clínico de paralisia puerperal, mas que,
17 mesmo assim, ocorre uma maior predisposição para a ocorrência de enfermidades, devido aos
18 baixos níveis séricos de cálcio sérico, ou em função do excesso de tempo em que os níveis de
19 cálcio permanecem inadequados. Estes efeitos acontecem principalmente devido à menor
20 contratilidade do músculo liso e ao efeito negativo direto da hipocalcemia na função imune. Com
21 isso aumenta a incidência de enfermidades como retenção de placenta, metrite, mastite, cetose,
22 fígado gorduroso e deslocamento de abomaso, além de prejuízo nos índices produtivos e

1 reprodutivos com aumento das taxas de descarte involuntário (MARTINEZ et al., 2012;
2 RODRÍGUEZ et al., 2017).

3 Neste trabalho, foi possível observar a influência do tempo e da paridade nos níveis
4 séricos de cálcio total. As vacas primíparas apresentaram menores níveis de cálcio nos momentos
5 -7 e +7 em comparação às multíparas. Nos momentos +14 e +21, as primíparas apresentaram
6 maiores níveis de cálcio em comparação com as multíparas, o que pode estar refletindo o menor
7 volume de produção de leite nas primíparas.

8 Diversos outros fatores influenciam nos níveis séricos de cálcio durante o período de
9 transição. De acordo com LEAN et al. (2006), dietas pobres em magnésio no pré-parto podem
10 resultar em falhas na homeostase do cálcio no pós-parto. A hipomagnesemia afeta o metabolismo
11 do cálcio de duas formas principais: diminuindo a secreção de PTH e reduzindo a sensibilidade
12 dos tecidos alvo do PTH. O magnésio é necessário para a liberação de PTH pela paratireoide e
13 participa da síntese de enzimas intracelulares como a adenilciclase e a fosfolipase C, que
14 sinalizam a expressão de receptores de PTH no tecido ósseo e renal (GOFF, 2000). Dessa forma,
15 o magnésio é um importante fator relacionado às variações da calcemia em bovinos leiteiros
16 (DEGARIS e LEAN, 2008).

17 Além de exercer função protetiva nos níveis de cálcio, o magnésio é necessário para
18 inúmeras funções vitais no organismo, como a função nervosa e muscular, além de participar
19 como cofator enzimático em diversas rotas metabólicas do metabolismo dos glicídios, proteínas e
20 lipídios (DEGARIS e LEAN, 2008). Como não existe um mecanismo de controle hormonal para
21 a homeostasia do magnésio, a manutenção de níveis adequados depende primariamente da
22 ingestão e excreção deste mineral (GOFF, 2018).

1 De acordo com GOFF (2004), os níveis plasmáticos de magnésio devem ser mantidos
2 entre 1,7 e 2,4 mg/dL. Porém, LAGER & JORDAN (2012) sugerem o intervalo entre 1,92-2,6
3 mg/dL. O intervalo global de magnésio sérico encontrado no presente trabalho foi de 1,85 – 1,95
4 mg/dL (IC 95%). É possível que estas diferenças entre os intervalos de referência propostos se
5 devam a fatores individuais, como o estágio do ciclo lactacional, ou a fatores ambientais como
6 região geográfica em questão. Neste estudo, foi possível observar que os níveis séricos de
7 magnésio sofrem influência da paridade e do momento da avaliação (dia 7 vs. dia 28, na
8 categoria primípara $p < 0,05$; dia -7 vs. dia 28, na categoria múltipara $p < 0,05$).

9 Ao contrário do magnésio, altos níveis de fósforo dietético influenciam negativamente
10 nos níveis séricos de cálcio. Apesar de ser um ânion e acidificar o pH metabólico, a
11 hiperfosfatemia reduz a calcemia (LEAN et al., 2006), por meio da inibição da enzima alfa-
12 hidroxilase renal, a qual converte a 25-OH-vitamina D em 1,25-diOH-vitamina D (DHCC)
13 (MASUYAMA et al., 2000). O resultado é a diminuição da absorção intestinal de cálcio (GOFF,
14 2014). LAGER & JORDAN (2012), sugerem um intervalo para o fósforo entre 4,8-7,4 mg/dL. O
15 intervalo global de fósforo sérico encontrado no presente trabalho foi de 6,44 – 6,72 mg/dL (IC
16 de 95%). Apesar de ocorrer grande variabilidade entre indivíduos, a grande maioria dos animais
17 se manteve dentro do limite proposto, sendo a ocorrência de hipofosfatemia de 4% e de
18 hiperfosfatemia de 13%. Foi possível observar influência do tempo e da paridade nos níveis
19 séricos de fósforo durante o pré e pós-parto (dia -7 vs. dia 28, na categoria primípara $p < 0,05$; dia
20 -7 vs. dia 14 e dia-7 vs. dia 28, na categoria múltipara $p < 0,05$).

21 Neste trabalho, 28,6% (16/56) dos animais apresentaram algum tipo de enfermidade no
22 pós-parto, sendo: retenção de placenta 8,9% (5/56), metrite 23,2% (13/56), distocia 1,7% (1/56) e
23 tristeza parasitária bovina 1,7% (1/56). Um total de 4 animais apresentou uma combinação de

1 retenção de placenta e metrite. Comparando com outros trabalhos na literatura, CHAMBERLIN
2 et al. (2013), NEVES et al. (2018), RODRIGUES et al. (2017) apresentam valores de prevalência
3 de retenção de placenta entre 7 e 30,9%. Para metrite, MARTINEZ et al. (2012) e SEDÓ et al.
4 (2018), encontraram valores que variam entre 20,4 a 47,3%. Sendo assim, os índices de
5 prevalência para estas enfermidades estão de acordo com a literatura.

6 Atualmente, a principal estratégia de controle e prevenção dos distúrbios na homeostase
7 do cálcio, consiste na utilização de sais aniônicos no pré-parto. Os mecanismos prováveis pelo
8 qual a redução do DCAD impacta no metabolismo do cálcio são: aumento da sensibilidade ao
9 PTH, aumento da produção renal de DHCC com conseqüente aumento da absorção intestinal de
10 cálcio, maior resorção óssea de cálcio e aumento do cálcio sérico ionizado (GOFF & HORST,
11 1997; DEGARIS & LEAN, 2008, GOFF, 2018). Porém, não existe consenso na literatura sobre a
12 faixa de DCAD mais apropriada no pré-parto para prevenir hipocalcemia em bovinos leiteiros.
13 Uma metanálise realizada por SANTOS et al. (2019) indica que a faixa ideal de DCAD pode ser
14 próximo de -10 meq/100 g/MS por um período aproximado de 21 dias, ou que ocorra uma
15 redução de pelo menos 20 meq/100 g/MS entre a dieta do lote de vacas secas (-60 até -21 dias
16 em relação a data de parto) e a dieta do lote pré-parto (-21 dias até a data do parto). Outra
17 metanálise realizada por LEAN et al. (2019), não conclui se existe uma faixa ideal de DCAD,
18 mas sugere que existe uma relação linear entre a DCAD pré-parto com o risco de hipocalcemia
19 no pós-parto, sendo que a redução da DCAD no pré-parto resulta em aumentos proporcionais nos
20 níveis de Ca sérico no pós-parto.

21 De fato, os resultados da metanálise de SANTOS et al. (2019), mostram que a redução da
22 DCAD de $+20$ para -10 meq/100 g/MS causa um aumento médio do cálcio no dia do parto de
23 7,44 para 8,16 mg/dL. Apesar de os efeitos dos sais aniônicos sobre o metabolismo do cálcio já

1 estarem bem estabelecidos, poucos são os estudos que avaliam os efeitos da DCAD no
2 metabolismo do fósforo e magnésio, apesar da íntima relação que ocorrem entre todos estes
3 macrominerais. A hiperfosfatemia reduz a calcemia (LEAN et al., 2006), por inibir a conversão
4 de 25-OH-vitamina D em DHCC (MASUYAMA et al., 2000; GOFF, 2014), enquanto o
5 magnésio possui efeito protetivo nos níveis de cálcio (DEGARIS & LEAN, 2008), graças ao seu
6 efeito sobre a liberação do PTH (GOFF, 2000).

7 Em um estudo realizado por RAZZAGHI et al. (2012), a utilização de uma DCAD
8 negativa (-100 mEq/kg DM) aumentou a concentração plasmática de cálcio e magnésio no pré-
9 parto, quando comparado com um DCAD positivo (+100 mEq/kg DM). Entretanto, para o
10 fósforo, não foi possível observar influência da DCAD sobre suas concentrações plasmáticas
11 (SHAHZAD et al., 2008; WU et al., 2008). De acordo com RAZZAGHI et al. (2012), a DCAD
12 no pré-parto não influenciou as concentrações de magnésio e fósforo no pós-parto. Porém, LEAN
13 et al. (2006) e LI et al. (2008) afirmam que o aumento das concentrações plasmáticas de
14 magnésio em animais submetidos a dietas pré-parto com DCAD negativa pode ser atribuído ao
15 maior nível deste mineral na própria dieta e não a uma possível influência na homeostasia do
16 magnésio.

17 Com relação ao magnésio, o presente estudo está em concordância com RAZZAGHI et
18 al. (2012), pois houve uma correlação negativa (-0,29) entre DCAD pré-parto e o magnésio no
19 momento -7 ($p = 0,02$), ou seja, à medida que ocorreu uma redução do DCAD ocorreu um
20 aumento nos níveis de magnésio, sugerindo que o que o DCAD possa influenciar na magneemia.
21 Além disso, não foi possível observar nenhuma relação entre o DCAD pré-parto e o fósforo em
22 nenhum dos momentos avaliados.

1 Neste estudo, observou-se correlação positiva (+0,31) entre a DCAD e o tCa no pré-parto
2 ($p = 0,02$). Nesse período também houve correlação positiva (+0,33) considerando o tCa
3 corrigido ($p = 0,01$). Espera-se que a DCAD tenha correlação negativa com a calcemia, ou seja,
4 quanto maior a DCAD, menores os níveis de cálcio e vice-versa. Não ficou claro a causa exata
5 deste achado, mas é possível que possa ser decorrente do período avaliado (pré-parto), ou de
6 outros fatores dietéticos, como os próprios níveis de cálcio na dieta e não somente em
7 decorrência do efeito da DCAD. Além disso, não foi observada correlação significativa entre
8 DCAD no pré-parto com a calcemia dos períodos no pós-parto avaliados. É possível que o efeito
9 benéfico da DCAD sobre a calcemia ocorra apenas no pós-parto recente, não sendo visível nos
10 momentos avaliados no pós-parto (7, 14 e 28 dias), ou mesmo que a faixa ideal de DCAD não
11 tenha sido atingida neste caso (LEAN et al., 2019; SANTOS et al., 2019). Observou-se também,
12 correlação positiva (+0,32) entre o DCAD no pré-parto e os níveis de cálcio ionizado no dia 14
13 pós-parto ($p = 0,02$). No dia 28, houve uma tendência de correlação positiva (+0,24) entre a
14 DCAD no pré-parto e o cálcio total neste período ($p = 0,07$).

15 A aferição do pH urinário no pré-parto, mostrou que o pH médio encontrado foi de 7,0
16 (variação entre propriedades de 6,3 a 8,2). O monitoramento do pH urinário permite avaliar a
17 eficácia dos sais aniônicos em acidificar o pH sanguíneo. Em dietas catiônicas, o pH urinário
18 geralmente está acima de 8,2. Em dietas em que a quantidade de cátions é limitada, ocorrerá uma
19 leve redução da alcalinidade da urina, sendo o seu pH igual ou um pouco menor de 7,8. Para
20 prevenção da ocorrência de hipocalcemia, é necessário obter uma faixa de pH urinário entre 6,2 a
21 6,8 na raça Holandesa e 5,8 a 6,3 na raça Jersey. Para CHARBONNEAU et al. (2006), o pH
22 urinário no pré-parto deve ser mantido em torno de 7,0 independente da raça. Considerando esses
23 valores, pode-se concluir que a utilização de sais aniônicos no presente trabalho foi

1 moderadamente eficaz em acidificar o pH metabólico. Os valores médios de DCAD em cada
 2 período avaliado estão apresentados na Tabela 4.

3 **Tabela 4** – Média, mediana e intervalo de confiança (95%) para DCAD (mEq/100 g/MS) durante os
 4 diferentes períodos em relação ao parto (-7, 7, 14 e 28 dias) em vacas leiteiras no Rio Grande do Sul.

Período	Média	Mediana	Intervalo de confiança (95%)
Pré-parto (-7)	9,9	12,6	(7,26 – 12,46)
Pós-parto (7)	15	15,2	(14,38 – 15,62)
Pós-parto (14)	14,6	14	(13,81 – 15,39)
Pós-parto (28)	15,7	16,4	(14,31 – 17,01)

5
 6 O presente estudo, por ter sido realizado em fazendas comerciais sem possibilidade de
 7 intervir no manejo, é observacional. Por isso, a DCAD foi apenas mensurada como tal, não sendo
 8 o objetivo manipular a dieta para testar faixas específicas de DCAD. Com isso, foram
 9 encontrados valores de DCAD por vezes negativos, próximos a zero e por vezes positivos, porém
 10 não o suficiente para alcançar a faixa ideal de DCAD preconizada na literatura. Mesmo assim,
 11 não ocorreu nenhum caso clínico de hipocalcemia no período de estudo, com incidência
 12 moderada de enfermidades no pós-parto.

13 Foi possível perceber que existe uma divergência grande entre os valores obtidos de
 14 calcemia com o relatado na literatura, o que traduz em falta de consenso sobre o ponto de corte
 15 adequado para determinar hipocalcemia subclínica, bem como o momento em que essa avaliação
 16 deve ser realizada. Os valores de cálcio são muito dinâmicos no pós-parto, sendo normal que
 17 haja algum grau de hipocalcemia neste período e o que determine a ocorrência de hipocalcemia
 18 clínica seja a profundidade e o tempo em que se mantém o animal hipocalcêmico, bem como a
 19 associação com outros fatores individuais e ambientais. A aplicação de um trabalho de pesquisa

1 em nível regional permite entender estas variações naquele local, os fatores responsáveis por
2 estas variações, a definição de valores de referência mais precisos e, o estabelecimento de
3 estratégias de controle e prevenção mais eficientes e aplicáveis para cada realidade.

4

5 **CONCLUSÃO**

6 Este estudo avaliou a correlação da DCAD no pré-parto e os minerais cálcio (tCa, tCa corrigido e
7 iCa), magnésio e o fósforo em bovinos leiteiros durante o pré-parto (-7) e o pós-parto (7, 14 e
8 28). Observou-se correlação positiva entre a DCAD e os níveis de tCa ($p = 0,02$) e tCa corrigido
9 ($p = 0,01$), não ocorrendo interação nos demais períodos avaliados. Houve correlação negativa
10 entre a DCAD pré-parto e o magnésio no momento -7 ($p = 0,02$), não ocorrendo interações nos
11 demais momentos avaliados. Não houve influência da DCAD pré-parto na fosfatemia em nenhum
12 momento avaliado. Além disso, foi possível observar grande variabilidade nos níveis séricos de
13 cálcio total, cálcio total corrigido, cálcio ionizado, fósforo, magnésio e da relação Ca:P, de acordo
14 com o momento da amostragem e da paridade (primípara ou múltípara). Houve grande
15 variabilidade entre níveis de cálcio obtidos neste estudo, em comparação com os intervalos de
16 referência propostos na literatura em regiões distintas. É necessário a elaboração de intervalos de
17 referência para cada população e região geográfica, sendo importante considerar a categoria
18 animal e status fisiológico no momento da coleta. Ressalta-se a importância de considerar o valor
19 da calcemia corrigida pela concentração da albumina quando se trata de estabelecer dados de
20 prevalência de hipocalcemia subclínica.

21

22 **DECLARATION OF CONFLICT OF INTEREST**

1 The authors do not have any conflict of interest to declare.

2

3 **AUTHORS' CONTRIBUTIONS**

4 All authors contributed equally for the conception and writing of the manuscript. All authors
5 critically revised the manuscript and approved of the final version.

6

7 **REFERENCIAS**

8 BAUMAN, D. E.; BRUCE CURRIE, W. Partitioning of nutrients during pregnancy and
9 lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. **Journal of Dairy**
10 **Science**, v. 63, n. 9, p. 1514–1529, 1980. Available from:
11 <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030280831110>>. Accessed: Oct, 11, 2021.
12 doi: 10.3168/jds.S0022-0302(80)83111-0

13 BOURGUIGNON, C. et al. Evaluation of NM-BAPTA method for plasma total calcium
14 measurement on Cobas 8000. **Clinical Biochemistry**, v. 47, n. 7–8, p. 636–639, 2014. Available
15 from: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009912014000034>>. Accessed: Oct, 11,
16 2021. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2013.12.027.

17 CECCHINATO, A. et al. Genetic variation in serum protein pattern and blood β -hydroxybutyrate
17 and their relationships with udder health traits, protein profile, and cheese-making properties in
18 Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 12, p. 11108–11119, 2018. Available from:

1 <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030218309536>>. Accessed: Dec, 12, 2021.
2 doi: 10.3168/jds.2018-14907.

3 CHAMBERLIN, W. G. et al. Subclinical hypocalcemia, plasma biochemical parameters, lipid
4 metabolism, postpartum disease, and fertility in postparturient dairy cows. **Journal of Dairy**
5 **Science**, v. 96, n. 11, p. 7001–7013, 2013. Available from:
6 <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030213006474>>. Accessed: Oct, 18, 2021.
7 doi: 10.3168/jds.2013-6901.

8 CHAPINAL, N. et al. Herd-level association of serum metabolites in the transition period with
9 disease, milk production, and early lactation reproductive performance. **Journal of Dairy**
10 **Science**, v. 95, n. 10, p. 5676–5682, 2012. Available from:
11 <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030212004730>>. Accessed: Oct, 16, 2021.
12 doi: 10.3168/jds.2011-5132.

13 CHAPINAL, N. et al. The association of serum metabolites with clinical disease during the
14 transition period. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 10, p. 4897–4903, 2011. Available from:
15 <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002203021100511X>>. Accessed: Oct, 16, 2021.
16 doi: 10.3168/jds.2010-4075.

17 CHARBONNEAU, E.; PELLERIN, D.; OETZEL, G. R. Impact of Lowering Dietary Cation-
18 Anion Difference in Nonlactating Dairy Cows: A Meta-Analysis. **Journal of Dairy Science**, v.
19 89, n. 2, p. 537–548, 2006. Available from:
20 <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030206721166>>. Accessed: Oct, 19, 2021.
21 doi: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72116-6.

- 1 COZZI, G. et al. Short communication: Reference values for blood parameters in Holstein dairy
2 cows: Effects of parity, stage of lactation, and season of production. **Journal of Dairy Science**,
3 v. 94, n. 8, p. 3895–3901, 2011. Available from:
4 <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030211003948>>. Accessed: Sep, 13, 2021.
5 doi: 10.3168/jds.2010-3687.
- 6 DEGARIS, P. J.; LEAN, I. J. Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control
7 principles. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 58–69, 2008. Available from:
8 <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023307004261>>. Accessed: Oct, 11, 2021.
9 doi: 10.1016/j.tvjl.2007.12.029.
- 10 EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J; WEAVER, C.D. A body condition scoring chart for Holstein
11 dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 68-78, 1989. Available from:
12 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030289790810>>. Accessed: Dec, 10,
13 2021. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(89)79081-0.
- 14 FACCIO-DEMARCO, C. et al. Effect of yeast products supplementation during transition period
15 on metabolic profile and milk production in dairy cows. **Tropical Animal Health and**
16 **Production**, v. 51, n. 8, p. 2193–2201, 2019. Available from:
17 <<http://link.springer.com/10.1007/s11250-019-01933-y>>. Accessed: Sep, 2, 2021. Doi:
18 10.1007/s11250-019-01933-y.
- 19 FIGGE, J. et al. Anion gap and hypoalbuminemia. **Critical Care Medicine**, v. 26, n. 11, p.
20 1807–1810, 1998. Available from: <<http://journals.lww.com/00003246-199811000-00019>>.
21 Accessed: Dec, 7, 2021. doi: 10.1097/00003246-199811000-00019

- 1 GOFF, J. P. Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect
2 acid–base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. **Journal of**
3 **Dairy Science**, v. 101, n. 4, p. 2763–2813, 2018. Available from:
4 <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030218300614>>. Accessed: Sep, 7, 2021. doi:
5 10.3168/jds.2017-13112.
- 6 GOFF, J. P.; HORST, R. L. Physiological changes at parturition and their relationship to
7 metabolic disorders. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 7, p. 1260–1268, 1997. Available from:
8 <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030297760557>>. Accessed: Sep, 7, 2021. doi:
9 10.3168/jds.S0022-0302(97)76055-7.
- 10 GOFF, J. P.; LIESEGANG, A.; HORST, R. L. Diet-induced pseudohypoparathyroidism: A
11 hypocalcemia and milk fever risk factor. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 3, p. 1520–1528,
12 2014. Available from: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030214000228>>.
13 Accessed: Feb, 18, 2021. doi: 10.3168/jds.2013-7467.
- 14 GONÇALVES, R. et al. Administration of early post-partum oral drench in dairy cows: effect on
15 metabolic profile. **Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia**, v. 62, n. 3,
16 p. 10–17, 2015. Available from:
17 <<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/remevez/article/view/54937>>. Accessed: Oct, 20,
18 2021. doi: 10.1590/fst.22920.
- 19 INMET – Instituto Nacional de Meteorologia. **Dados históricos anuais 2021**. Online. Available
20 from: < <https://portal.inmet.gov.br/dadoshistoricos> >. Accessed: Dez. 20, 2021.
- 21 KRAUSE, A. R. T. et al. Associations between resumption of postpartum ovarian activity,
22 uterine health and concentrations of metabolites and acute phase proteins during the transition
23 period in Holstein cows. **Animal Reproduction Science**, v. 145, n. 1–2, p. 8–14, 2014. Available

- 1 from: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378432013003710>>. >. Accessed: Sep, 2,
2 2021. doi: 10.1016/j.anireprosci.2013.12.016.
- 3 LEAN, I. J. et al. Effects of prepartum dietary cation-anion difference intake on production and
4 health of dairy cows: A meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 3, p. 2103–2133,
5 2019. Available from: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030218311147>>.
6 Accessed: Sep, 11, 2021. doi: 10.3168/jds.2018-14769.
- 7 LEAN, I. J. et al. Hypocalcemia in dairy cows: meta-analysis and dietary cation anion difference
8 theory revisited. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 2, p. 669–684, 2006. Available from:
9 <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030206721300>>. Accessed: Oct, 15, 2021.
10 doi: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72130-0.
- 11 LI, F. C.; LIU, H. F.; WANG, Z. H. Effects of dietary cation–anion difference on calcium,
12 nitrogen metabolism and relative blood traits of dry Holstein cows. **Animal Feed Science and**
13 **Technology**, abr. 2008. v. 142, n. 1–2, p. 185–191. Available from:
14 <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0377840107002702>>. Accessed: Oct, 23, 2021.
15 doi: 10.1016/j.anifeedsci.2007.07.003.
- 16 MARTINEZ, N. et al. Evaluation of peripartal calcium status, energetic profile, and neutrophil
17 function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. **Journal of Dairy**
18 **Science**, v. 95, n. 12, p. 7158–7172, 2012. Available from:
19 <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030212007151>>. Accessed: Oct, 18, 2021.
20 doi: 10.3168/jds.2012-5812.
- 21 MONTAGNER, P. et al. Relationship between pre-partum body condition score changes, acute
22 phase proteins and energy metabolism markers during the peripartum period in dairy cows.
23 **Italian Journal of Animal Science**, 16, n. 2, p. 329–336, 2017. Available from:

- 1 <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/1828051X.2016.1277964>>. Accessed: Sep, 2,
2 2021. doi: 10.1016/j.rvsc.2016.02.015.
- 3 NEVES, R. C. et al. Epidemiology of subclinical hypocalcemia in early-lactation Holstein dairy
4 cows: The temporal associations of plasma calcium concentration in the first 4 days in milk with
5 disease and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 10, p. 9321–9331, 2018.
6 Available from: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030218307008>>. Accessed:
7 Oct, 20, 2021. doi: 10.3168/jds.2018-14587.
- 8 OETZEL, G. R. et al. Ammonium chloride and ammonium sulfate for prevention of parturient
9 paresis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 12, p. 3302–3309, 1988. Available
10 from: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002203028879935X>>. Accessed: Oct, 23,
11 2021. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(88)79935-X.
- 12 RAZZAGHI, A. et al. Effect of dietary cation-anion difference during prepartum and postpartum
13 periods on performance, blood and urine minerals status of Holstein dairy cow. **Asian-**
14 **Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 25, n. 4, p. 486–495, 2012. Available from:
15 <<http://ajas.info/journal/view.php?doi=10.5713/ajas.2011.11325>>. Accessed: Feb, 11, 2021. doi:
16 10.5713/ajas.2011.11325.
- 17 REINHARDT, T. A. et al. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. **The**
18 **Veterinary Journal**, v. 188, n. 1, p. 122–124, 2011. Available from:
19 <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023310001085>>. Accessed: Oct, 11, 2021.
20 doi: 10.1016/j.tvjl.2010.03.025.
- 21 ROCHE, J. R.; BERRY, D. P. Periparturient climatic, animal, and management factors
22 influencing the incidence of milk fever in grazing systems. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 7,

- 1 p. 2775–2783, 2006. Available from:
2 <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030206723542>>. Accessed: Oct, 23, 2021.
3 doi: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72354-2.
- 4 RODRÍGUEZ, E. M.; ARÍS, A.; BACH, A. Associations between subclinical hypocalcemia and
5 postparturient diseases in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 9, p. 7427–7434,
6 2017. Available from: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030217306331>>.
7 Accessed: Oct, 18, 2021. doi: 10.3168/jds.2016-12210.
- 8 SABORÍO-MONTERO, A. et al. Risk factors associated with milk fever occurrence in grazing
9 dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 9715–9722, 2017. Available from:
10 <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030217308767>>. Accessed: Sep, 13, 2021.
11 doi: 10.3168/jds.2017-13065.
- 12 SANTOS, J. E. P. et al. Meta-analysis of the effects of prepartum dietary cation-anion difference
13 on performance and health of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 3, p. 2134–2154,
14 2019. Available from: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030219300037>>.
15 Accessed: Oct, 13, 2021. doi: 10.3168/jds.2018-14628.
- 16 SEDÓ, S. U. et al. Associations of subclinical hypocalcemia with fertility in a herd of grazing
17 dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 11, p. 10469–10477, 2018. Available from:
18 <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030218308439>>. Accessed: Jun, 17, 2021.
19 doi: 10.3168/jds.2017-14242.
- 20 SHAHZAD, M.; SARWAR, M.; MAHR-UN-NISA. Influence of varying dietary cation anion
21 difference on serum minerals, mineral balance and hypocalcemia in Nili Ravi buffaloes.
22 **Livestock Science**, v. 113, n. 1, p. 52–61, 2008. Available from:

1 <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1871141307002090>>. Accessed: Oct, 23, 2021.

2 doi: 10.1016/j.livsci.2007.02.013.

3 VENJAKOB, P. L. et al. Association of postpartum hypocalcemia with early-lactation milk yield,
4 reproductive performance, and culling in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 10, p.

5 9396–9405, 2018. Available from: <[6 0302\(18\)30662-3>. Accessed: Jun, 17, 2021. doi: 10.3168/jds.2017-14202.](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022-</p></div><div data-bbox=)

7 WU, W. X. et al. Calcium homeostasis, acid–base balance, and health status in periparturient

8 Holstein cows fed diets with low cation–anion difference. **Livestock Science**, v. 117, n. 1, p. 7–

9 14, 2008. Available from: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1871141307005355>>.

10 Accessed: Jul, 21, 2021. doi: 10.1016/j.livsci.2007.11.005.

11

12

13

14

15 ORCID:

16 Jerbeson Hoffmann da Silva - <https://orcid.org/0000-0001-9383-2153>

17 Laura Victoria Quishpe Contreras - <https://orcid.org/0001-9718-9636>

18 Carin Fernanda Ponath - <https://orcid.org/0000-0003-1299-8763>

19 Carlos Bondan – <https://orcid.org/0000-0002-4827-2609>

20 Márcio da Costa Machado - <https://orcid.org/0000-0002-8630-1781>

1 Félix González - <https://orcid.org/0000-0001-8194-0480>.

2

5. CONCLUSÕES

Este estudo avaliou a correlação da DCAD no pré-parto e os minerais cálcio (tCa, tCa corrigido e iCa), magnésio e o fósforo em bovinos leiteiros durante o pré-parto (-7) e o pós-parto (7, 14 e 28). Observou-se correlação positiva entre a DCAD e os níveis de tCa ($p = 0,02$) e tCa corrigido ($p = 0,01$), não ocorrendo interação nos demais períodos avaliados. Houve correlação negativa entre a DCAD pré-parto e o magnésio no momento -7 ($p = 0,02$), não ocorrendo interações nos demais momentos avaliados. Não houve influência da DCAD pré-parto na fosfatemia em nenhum momento avaliado. Além disso, foi possível observar grande variabilidade nos níveis séricos de tCa, tCa corrigido, iCa, fósforo, magnésio e da relação Ca:P, de acordo com o momento da amostragem e da paridade (primípara ou multípara). Houve grande variabilidade entre níveis de cálcio obtidos neste estudo, em comparação com os intervalos de referência propostos na literatura em regiões distintas. É necessário a elaboração de intervalos de referência para cada população e região geográfica, sendo importante considerar a categoria animal e status fisiológico no momento da coleta. Ressalta-se a importância de considerar o valor da calcemia corrigida pela concentração da albumina quando se trata de estabelecer dados de prevalência de hipocalcemia subclínica.

REFERENCIAS

- BAUMAN, D. E.; BRUCE CURRIE, W. Partitioning of Nutrients During Pregnancy and Lactation: A Review of Mechanisms Involving Homeostasis and Homeorhesis. **Journal of Dairy Science**, set. 1980. v. 63, n. 9, p. 1514–1529.
- BLOCK, E. Manipulation of Dietary Cation-Anion Difference on Nutritionally Related Production Diseases, Productivity, and Metabolic Responses of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, maio. 1994. v. 77, n. 5, p. 1437–1450.
- CHAPINAL, N. et al. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. **Journal of Dairy Science**, out. 2011. v. 94, n. 10, p. 4897–4903.
- CHARBONNEAU, E.; PELLERIN, D.; OETZEL, G. R. Impact of Lowering Dietary Cation-Anion Difference in Nonlactating Dairy Cows: A Meta-Analysis. **Journal of Dairy Science**, fev. 2006.
- CONSTABLE, P. D. Clinical Assessment of Acid-Base Status. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, nov. 1999. v. 15, n. 3, p. 447–471.
- DEGARIS, P. J.; LEAN, I. J. Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. **The Veterinary Journal**, abr. 2008. v. 176, n. 1, p. 58–69.
- EMATER. **Relatório socioeconômico da cadeia produtiva do leite no Rio Grande do Sul:2019**. Porto Alegre, RS: [s.n.], 2019.
- FIORENTIN, E. L. et al. Occurrence of subclinical metabolic disorders in dairy cows from western Santa Catarina state, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, abr. 2018. v. 38, n. 4, p. 629–634.
- GOFF, J. P.; HORST, R. L. Physiological Changes at Parturition and Their Relationship to Metabolic Disorders. **Journal of Dairy Science**, jul. 1997. v. 80, n. 7, p. 1260–1268.
- GOFF, J. P.; LIESEGANG, A.; HORST, R. L. Diet-induced pseudohypoparathyroidism: A hypocalcemia and milk fever risk factor. **Journal of Dairy Science**, mar. 2014. v. 97, n. 3, p. 1520–1528.
- GOFF, J. P. Pathophysiology of Calcium and Phosphorus Disorders. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, jul. 2000. v. 16, n. 2, p. 319–337.
- GOFF, J. P. Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid–base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. **Journal of Dairy Science**, abr. 2018. v. 101, n. 4, p. 2763–2813.
- GOFF, J. P. Macromineral disorders of the transition cow. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, nov. 2004. v. 20, n. 3, p. 471–494.
- GOFF, J. P. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. **The Veterinary Journal**, abr. 2008. v. 176, n. 1, p. 50–57.

GOMIDE, C. A. et al. Influência da diferença cátion-aniônica da dieta sobre o balanço de cálcio, fósforo e magnésio em ovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, jun. 2004. v. 56, n. 3, p. 363–369.

K. LARGER, E. J. The Metabolic Profile for the Modern Transition Dairy Cow. Grapevine, Texas: [s.n.], 2012. p. 9–16. LEAN, I. J. et al. Hypocalcemia in Dairy Cows: Meta-analysis and Dietary Cation Anion Difference Theory Revisited. **Journal of Dairy Science**, fev. 2006. v. 89, n. 2, p. 669–684.

LEAN, I. J.; DEGARIS, P. J. **Transition Cow Management: a review for nutritional professionals, veterinarians and farm advisers**. [S.l.]: Dairy Australia, 2010. LI, F. C.; LIU, H. F.; WANG, Z. H. Effects of dietary cation–anion difference on calcium, nitrogen metabolism and relative blood traits of dry Holstein cows. **Animal Feed Science and Technology**, abr. 2008. v. 142, n. 1–2, p. 185–191.

MASUYAMA, R. et al. Chronic Phosphorus Supplementation Decreases the Expression of Renal PTH/PTHrP Receptor mRNA in Rats. **American Journal of Nephrology**, 2000. v. 20, n. 6, p. 491–495.

NEVES, R. C. et al. Epidemiology of subclinical hypocalcemia in early-lactation Holstein dairy cows: The temporal associations of plasma calcium concentration in the first 4 days in milk with disease and milk production. **Journal of Dairy Science**, out. 2018. v. 101, n. 10, p. 9321–9331.

NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. Washington, DC: National Academy Press, 2001. OETZEL, G. R. et al. Ammonium Chloride and Ammonium Sulfate for Prevention of Parturient Paresis in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, dez. 1988. v. 71, n. 12, p. 3302–3309.

OETZEL, G. R. Meta-Analysis of Nutritional Risk Factors for Milk Fever in Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, nov. 1991. v. 74, n. 11, p. 3900–3912. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030291785834>>. PATEL, V. et al. Prevention of Milk fever: Nutritional Approach. **Veterinary World**, 2011. p. 278.

PHILLIPPO, M.; REID, G. W.; NEVISON, I. M. Parturient hypocalcaemia in dairy cows: effects of dietary acidity on plasma minerals and calciotropic hormones. **Research in Veterinary Science**, maio. 1994. v. 56, n. 3, p. 303–309.

RAZZAGHI, A. et al. Effect of Dietary Cation-Anion Difference during Prepartum and Postpartum Periods on Performance, Blood and Urine Minerals Status of Holstein Dairy Cow. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 20 fev. 2012. v. 25, n. 4, p. 486–495.

REINHARDT, T. A. et al. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. **The Veterinary Journal**, abr. 2011. v. 188, n. 1, p. 122–124.

ROCHE, J. R. The incidence and control of hypocalcaemia in pasture-based systems. **Acta veterinaria Scandinavica. Supplementum**, 2003. v. 97, p. 141–4.

ROCHE, J. R.; BERRY, D. P. Periparturient Climatic, Animal, and Management Factors Influencing the Incidence of Milk Fever in Grazing Systems. **Journal of Dairy Science**, jul. 2006. v. 89, n. 7, p. 2775–2783.

SABORÍO-MONTERO, A. et al. Risk factors associated with milk fever occurrence in grazing dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, dez. 2017. v. 100, n. 12, p. 9715–9722.

SANCHEZ, W. K.; BEEDE, D. K. Is there an optimal cation-anion difference for lactation diets? **Animal Feed Science and Technology**, jun. 1996. v. 59, n. 1–3, p. 3–12.

SHAHZAD, A. M.; SARWAR, M.; NISA, M. Influence of varying dietary cation anion difference on serum minerals, mineral balance and hypocalcemia in Nili Ravi buffaloes. **Livestock Science**, jan. 2008. v. 113, n. 1, p. 52–61.

TUCKER, W. B. et al. Role of sulfur and chloride in the dietary cation-anion balance equation for lactating dairy cattle. **Journal of Animal Science**, 1991. v. 69, n. 3, p. 1205.

VENJAKOB, P. L. et al. Association of postpartum hypocalcemia with early-lactation milk yield, reproductive performance, and culling in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, out. 2018. v. 101, n. 10, p. 9396–9405.

WIGGERS, K. D.; NELSON, D. K.; JACOBSON, N. L. Prevention of Parturient Paresis by a Low-Calcium Diet Prepartum: a Field Study. **Journal of Dairy Science**, mar. 1975. v. 58, n. 3, p. 430–431.

WU, W. X. et al. Calcium homeostasis, acid–base balance, and health status in periparturient Holstein cows fed diets with low cation–anion difference. **Livestock Science**, ago. 2008. v. 117, n. 1, p. 7–14.

ZIMPEL, R. et al. Effect of dietary cation-anion difference on acid-base status and dry matter intake in dry pregnant cows. **Journal of Dairy Science**, set. 2018. v. 101, n. 9, p. 8461–8475.