

**Universidade Brasil  
Campus Descalvado**

**ROBERTA VANESSA PINHO CASALE**

**GALACTOPOESE EM VACAS SUPLEMENTADAS POR VIA  
PARENTERAL COM AMINOÁCIDOS E VITAMINAS**  
GALACTOPOIESIS IN COWS SUPPLEMENTED PARENTERALLY WITH AMINO  
ACIDS AND VITAMINS

**DESCALVADO, SP**

**2016**

**ROBERTA VANESSA PINHO CASALE**

**GALACTOPOESE EM VACAS SUPLEMENTADAS POR VIA PARENTERAL  
COM AMINOÁCIDOS E VITAMINAS**

**Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio de Andrade Belo**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Brasil, Campus de Descalvado, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

**Descalvado, SP**

**2016**

## FICHA CATALOGRÁFICA

C33g Casale, Roberta Vanessa Pinho  
Galactopose em vacas suplementadas por via parenteral com aminoácidos e vitaminas / Roberta Vanessa Pinho Casale. -- Descalvado, 2016.  
48 f. : il. ; 29,5cm.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Brasil, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Orientador: Prof<sup>o</sup> Dr. Marco Antonio de Andrade Belo

1. Lactação. 2. Leite. 3. Produtividade. 4. Suplementação. I. Título.

CDD 636.2142

**Termo de Autorização****Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página WWW do Respeetivo Programa da UNICASTELO e no Banco de Teses da CAPES**

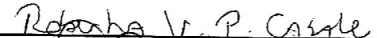
Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(amos) a UNICASTELO a disponibilizar através do site <http://www.unicastelo.edu.br>, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, bem como no Banco de Dissertações e Teses da CAPES, através do site <http://bancodeteses.capes.gov.br>, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira.

A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.


Título do Trabalho: **"Galactopoeise em vacas suplementadas via parenteral com aminoácidos e vitaminas"**

Autores:

Discente: Roberta Vanessa Pinho Casale

Assinatura: 

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio de Andrade Belo

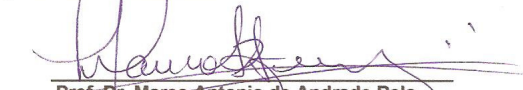
Assinatura: 

Data: 30 de março de 2016

UNICASTELO

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO****Roberta Vanessa Pinho Casale****“Galactopose em vacas suplementadas via parenteral com aminoácidos e vitaminas”**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Camilo Castelo Branco, pela seguinte banca examinadora:



**Prof. Dr. Marco Antonio de Andrade Belo**  
(Orientador)  
Programa de Pós-Graduação em Produção Animal



**Profa. Dra. Cássia Maria Barroso Orlandi**  
Programa de Pós-Graduação em Produção Animal



**Profa. Dra. Annelise Carla Camplesi**  
Depto de Medicina Veterinária  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária - UNESP

Descalvado, 30 de Março de 2016

**Prof. Dr. Marco Antonio de Andrade Belo**  
**Presidente da Banca**

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Roberto e Sandra, que têm sido uma fonte constante de amor e apoio emocional, sem os quais eu seria incapaz de existir.

Às minhas irmãs, Renata e Rachel, meu cunhado Gil e meus amados sobrinhos, Daniel e Miguel, pelos momentos de alegria que desfrutamos durante o convívio familiar.

Aos meus avós maternos, Oswaldo (*in memoriam*) e Atir (*in memoriam*), pelo carinho, paciência e dedicação durante toda minha infância.

Ao meu amorzudo, Paulo Henrique Moura Dian, pelo amor, pela valiosa colaboração na fase final desse trabalho e, principalmente, por me ajudar a ser uma pessoa melhor a cada dia.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Marco Antonio de Andrade Belo, meu orientador, pela paciência, amizade e incansável disposição em ajudar. Esse trabalho certamente só foi concluído graças à sua inestimável colaboração.

Ao Prof. Dr. Vando Edésio Soares, pelo empenho em inserir-me nesse programa de pós-graduação.

À todos os professores do programa de mestrado em produção animal da Universidade Brasil (aos que já se foram e aos que ainda permanecem), Profa. Dra. Cássia Maria Barroso Orlandi, Prof. Dr. Gabriel Peruca de Melo, Profa. Dra. Käthery Brennecke, Profa. Dra. Liandra Maria Abaker Bertipaglia, Profa. Dra. Márcia de Oliveira Sampaio Gomes, Profa. Dra. Márcia Izumi Sakamoto, Prof. Dr. Marco Antonio de Andrade Belo, Prof. Dr. Paulo Henrique Moura Dian e Prof. Dr. Vando Edésio Soares, pela paciência, incentivo e conhecimentos transmitidos.

À querida Juliana Pierobon, pelo indispensável auxílio em questões burocráticas e por exercer suas funções sempre de forma tão educada e gentil.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Márcia Ferreira da Rosa Sobreira, pela amizade, cumplicidade, ensinamentos e exemplo de pessoa e profissional a ser seguido.

Ao Prof. Dr. Luciano Melo de Souza, pelo incentivo, amizade, companheirismo e por sempre acreditar e confiar em meu trabalho.

## **Galactopose em vacas suplementadas por via parenteral com aminoácidos e vitaminas**

### **RESUMO**

Considerando-se as características fisiológicas do processo digestivo de animais poligástricos, torna-se difícil a tarefa de instituir qualquer suplementação enteral que consiga atingir uma biodisponibilidade satisfatória. Tal dificuldade, estimula a busca por vias de administração parenterais que consigam aumentar a quantidade de determinados substratos nutricionais, deixando-os disponíveis para a manutenção do metabolismo e aumento da produção. O presente estudo tem por escopo avaliar a eficácia e segurança clínica (inocuidade) de um suplemento composto por aminoácidos e vitaminas, após a administração subcutânea em vacas mestiças lactantes na dose de 10mL/animal, através de estudo da produção leiteira e da qualidade do leite, assim como da evolução clínica e toxicológica, mediante análise de parâmetros fisiológicos, bioquímicos, eritrocitários, leucocitários e plaquetários. Concluiu-se que houve aumento na produção leiteira de animais tratados semanalmente e mensalmente comparados ao grupo controle, porém não se observou variações significativas na quantidade de leite produzida. O composto também mostrou-se seguro do ponto de vista toxicológico, pois não foram observadas variações dos parâmetros clínicos, hematológicos e bioquímicos dos animais tratados.

**Palavras-chave:** lactação, leite, produtividade, suplementação.



## **Galactopoiesis in cows supplemented parenterally with amino acids and vitamins**

### **ABSTRACT**

Considering the physiological characteristics of the digestive process of polygastric animals, it is difficult to institute any enteral supplementation that achieves a satisfactory bioavailability. Such difficulty stimulates the search for parenteral routes of administration that can increase the quantity of certain nutritional substrates, leaving them available for the maintenance of metabolism and increase of production. The present study aims to evaluate the efficacy and clinical safety of a supplement composed of amino acids and vitamins, after subcutaneous administration in lactating dairy cows at 10mL / animal, through a study of milk production and milk quality, as well as the clinical and toxicological evolution, through analysis of physiological, biochemical, erythrocyte, leukocyte and platelet parameters. It was concluded that there was an increase in the milk production of animals treated weekly and monthly compared to the control group, but there were no significant variations in the amount of milk produced. The compound was also safe from the toxicological point of view, as no clinical, hematological and biochemical parameters variations of the treated animals were observed.

**Keywords:** Lactation, milk, productivity, supplementation.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Administração do tratamento com composto de aminoácidos e vitaminas por via subcutânea.....	19
<b>Figura 2</b> - Pesagem manual do leite após ordenha de cada animal.....	20

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Delineamento experimental para o estudo da eficácia e segurança clínica do composto de aminoácidos e vitaminas, via subcutânea, em vacas mestiças lactantes.....	19
<b>Tabela 2</b> - Parâmetros hematológicos avaliados em sangue total, colhido com anticoagulante, para determinação da segurança clínica do tratamento com administração subcutânea do composto de aminoácidos e vitaminas em vacas leiteiras.....	22
<b>Tabela 3</b> - Parâmetros bioquímicos avaliados em amostras de soro colhidas para determinação da segurança clínica do tratamento com administração subcutânea do composto de aminoácidos e vitaminas em vacas leiteiras.....	22
<b>Tabela 4</b> - Valores médios (n=8) e análise de variância estatística para a produção leiteira, frequência respiratória, temperatura cutânea esquerda e direita de vacas submetidas ao tratamento com composto de aminoácidos e vitaminas.....	25
<b>Tabela 5</b> - Valores médios (n=48) e análise de significância estatística <sup>1</sup> na comparação entre os tratamentos para produção de leite e parâmetros clínicos de vacas mestiças tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.....	26
<b>Tabela 6</b> - Valores médios (n=32) e análise de significância estatística <sup>1</sup> na comparação entre os períodos analisados para produção de leite e parâmetros clínicos de vacas mestiças tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.....	26
<b>Tabela 7</b> - Valores médios (n=8) e análise de variância estatística <sup>1</sup> para a análise de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado no leite de vacas lactantes tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.....	28
<b>Tabela 8</b> - Valores médios (n=48) e análise de significância estatística <sup>1</sup> na comparação entre os tratamentos de gordura, proteína, lactose, ST e ESD presente no leite de vacas mestiças tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.....	29

<b>Tabela 9</b> - Valores médios (n=8) e análise de variância estatística <sup>1</sup> para a determinação da contagem de células somáticas, caseína percentual de caseína no total proteico, crioscopia e nitrogênio ureico presentes no leite de vacas tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.....	30
<b>Tabela 10</b> - Valores médios (n=48) e análise de significância estatística <sup>1</sup> na comparação entre os tratamentos para a contagem de células somáticas (CCS), quantidade de caseína, a proporção percentual de caseína em relação às proteínas totais, crioscopia e nitrogênio ureico presentes no leite de vacas mestiças tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.....	31
<b>Tabela 11</b> - Valores médios (n=8) e análise de variância estatística <sup>1</sup> para a análise de AST, ALT, GGT, FA e LDH sérica em vacas lactantes tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.....	32
<b>Tabela 12</b> - Valores médios (n=48) e análise de significância estatística <sup>1</sup> na comparação entre os tratamentos para ALT, AST, GGT, FA e LDH presentes no sangue de vacas mestiças tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.....	33
<b>Tabela 13</b> - Valores médios (n=8) e análise de variância estatística <sup>1</sup> para a análise de glicemia, triglicerídeos, colesterol, proteínas totais, albumina, ureia e creatinina sanguínea em vacas lactantes tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.....	34
<b>Tabela 14</b> - Valores médios (n=48) e análise de significância estatística <sup>1</sup> na comparação entre os tratamentos para glicemia, triglicerídeos, colesterol, proteínas totais, albumina, ureia e creatinina presentes no sangue de vacas mestiças tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.....	35
<b>Tabela 15</b> - Valores médios (n=8) e análise de variância estatística <sup>1</sup> para contagem global de eritrócitos, hematócrito, VCM, hemoglobina, HCM, CHCM e plaquetas em vacas lactantes tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.....	36
<b>Tabela 16</b> - Valores médios (n=48) e análise de significância estatística <sup>1</sup> na comparação entre os tratamentos para contagem de eritrócitos, percentual	

de hematócrito, hemoglobina, VCM, HCM, CHCM e plaquetas presentes no sangue de vacas mestiças tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.....	37
<b>Tabela 17</b> - Valores médios (n=8) e análise de variância estatística <sup>1</sup> para contagem global e diferencial absoluta e relativa de leucócitos em vacas lactantes tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.....	38
<b>Tabela 18</b> - Valores médios (n=48) e análise de significância estatística <sup>1</sup> na comparação entre os tratamentos para contagem global e diferencial relativa e absoluta de leucócitos presentes no sangue de vacas mestiças tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.....	39
<b>Tabela 19</b> - Valores médios (n=32) e análise de significância estatística <sup>1</sup> na comparação entre os dias analisados para contagem global e diferencial relativa e absoluta de leucócitos presentes no sangue de vacas mestiças tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.....	39

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AT	Antes do tratamento
DPT	Dias pós tratamento
CCS	Contagem de células somáticas
CBT	Contagem bacteriana total
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
GGT	Gama-glutamilttransferase
FA	Fosfatase alcalina
LDH	Lactato desidrogenase
ST	Sólidos totais
ESD	Extrato seco desengordurado
NU	Nitrogênio uréico
CRI	Crioscopia
CAS	Caseína
Pcas	Proporção percentual de caseína
TG	Triglicerídeos
PT	Proteínas totais
VCM	Volume corpuscular médio
HCM	Hemoglobina corpuscular média
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
Hg	Hemoglobina
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	16
1.1.	Relevância do tema.....	16
1.2.	Hipótese.....	17
1.3.	Objetivo geral e objetivos específicos.....	17
2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	18
2.1.	Local de condução.....	18
2.2.	Animais.....	18
2.3.	Delineamento experimental.....	18
2.4.	Tratamento com suplemento contendo aminoácidos e vitaminas.....	19
2.5.	Avaliação da produtividade leiteira.....	20
2.6.	Análise físico-química do leite e contagem de células somáticas totais (CCS).....	20
2.7.	Contagem bacteriana total (CBT).....	21
2.8.	Colheita de sangue.....	21
2.9.	Determinação do perfil bioquímico.....	22
2.10.	Determinação do hemograma.....	23
2.11.	Avaliação clínica e comportamental.....	23
2.12.	Análise estatística.....	23
3.	RESULTADOS.....	24
3.1.	Produção de leite e parâmetros clínicos.....	24
3.2.	Análise do leite.....	27
3.3.	Bioquímica sérica.....	31
3.4.	Estudo hematológico.....	35
4.	DISCUSSÃO.....	40
5.	CONCLUSÕES.....	43
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Relevância do tema

Nas últimas décadas, a busca por melhor eficiência na pecuária leiteira propiciou o desenvolvimento e aprimoramento de técnicas que proporcionaram incremento na produção, melhora na qualidade físico-química e nutricional do leite, redução na ocorrência de distúrbios metabólicos e dos custos de cria e recria de fêmeas destinadas à reposição, sem detrimento ao desempenho animal [1].

Neste sentido, considerável atenção tem sido dada à determinação de requisitos de proteínas para ruminantes, tendo sido proposta uma série de sistemas ou modelos baseados, principalmente, nas frações proteicas degradáveis e não-degradáveis dos alimentos, deixando o campo aberto para a predição de exigências em aminoácidos.

Não há dúvidas de que ruminantes e não-ruminantes devem receber quantidade suficiente de aminoácidos essenciais para atender às necessidades de manutenção e produção. O National Research Council [2] considerou que os conhecimentos atuais são insuficientes para estabelecer recomendações de aminoácidos para vacas de leite. Diante disso, torna-se de grande importância o estudo da suplementação de aminoácidos em vacas leiteiras para verificar o efeito sobre a produção e qualidade do leite.

Os alimentos consumidos pelos ruminantes são inicialmente expostos à fermentação ruminal antes da digestão gástrica e intestinal. Os polissacarídeos e as proteínas da dieta são geralmente degradados pelos microrganismos do rúmen e os produtos finais desse processo fermentativo (ácidos orgânicos e proteína microbiana) são utilizados pelo animal como fonte de energia e aminoácidos [3]. Desse modo, em ruminantes, o requerimento de aminoácidos a serem absorvidos no intestino é suprido pela síntese de proteína microbiana no rúmen, pela proteína não-degradada no rúmen, mas digerida no intestino, e pela proteína endógena [4].

A suplementação parenteral de aminoácidos, neste contexto, seria uma forma de suplementação eficiente para animais de alta produção. Vários produtos



disponíveis no mercado citam melhora da eficiência produtiva e reprodutiva, porém dados de pesquisas na literatura são escassos.

No entanto, outro aspecto extremamente relevante, quando se estuda a administração exógena de compostos farmacológicos, relaciona-se a inocuidade dos mesmos. Pois, aliado à sua atividade terapêutica, estas formulações devem oferecer segurança clínica aos animais. Segundo KLAASSEN [5], toda substância é potencialmente tóxica, a dose correta diferencia o remédio do tóxico.

Devido à importância dos moderadores orgânicos na produção buscando melhorar a atividade metabólica e o desempenho produtivo dos animais, associado ao crescimento no emprego destes compostos em sistemas intensivos de produção, este estudo tem por objetivo avaliar a eficácia e segurança clínica (inocuidade) de um composto de aminoácidos e vitaminas, após a administração subcutânea em vacas mestiças lactantes.

## **1.2. Hipótese**

Compostos de aminoácidos e vitaminas administrados por via parenteral podem atuar na manutenção da lactação e aumento na excreção do leite.

## **1.3. Objetivo geral e objetivos específicos**

O presente bioensaio avaliou a eficácia na produção de leite e segurança clínica (inocuidade) da administração de um suplemento contendo aminoácidos e vitaminas, realizada por via subcutânea na dose de 10mL/animal, em vacas mestiças lactantes.

De modo específico, pretendeu-se:

1. Estudar a produção leiteira e a qualidade do leite
2. Evolução clínica e toxicológica, mediante análise de parâmetros fisiológicos, bioquímicos, eritrocitários, leucocitários e plaquetários.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Local de condução**

O experimento foi conduzido no Sítio Sol, Município de Descalvado/SP e nos Laboratórios de Farmacologia e Patologia Clínica Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Brasil, Campus de Descalvado, aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa Institucional sob o número de processo **2517-2737/09**.

### **2.2 Animais**

Foram selecionadas 32 vacas mestiças, multíparas, com peso vivo médio de 510 kg, no pico de lactação. Os animais foram distribuídos pareados de acordo com o número de parições, data do parto e dias do parto. Os animais foram submetidos a ordenha, com ordenhadeira mecânica, duas vezes ao dia, sendo a média de produção diária de 10 litros/animal. As vacas foram mantidas em piquetes de capim tifton (*Cynodon dactylon*) contendo comedouros e bebedouros coletivos.

### **2.3 Delineamento experimental**

Para a avaliação da eficácia e segurança clínica do suplemento, 32 vacas foram randomizadas e distribuídas em 4 grupos de 8 animais cada, conforme a média de produtividade leiteira determinada em três avaliações consecutivas. Para o estudo comparativo das diferentes posologias, os animais foram amostrados em 6 períodos, isto é: um dia antes do tratamento (AT); 1, 8, 15, 22 e 29 dias pós-tratamento (DPT), em conformidade com a Tabela 1, constituindo os seguintes tratamentos: T1= sem tratamento (padrão fisiológico); T2= tratado semanalmente (5 aplicações); T3= tratado quinzenalmente (3 aplicações); T4= tratado mensalmente (2 aplicações).

Tabela 1 - Delineamento experimental para o estudo da eficácia e segurança clínica do composto de aminoácidos e vitaminas, via subcutânea, em vacas mestiças lactantes

Grupos experimentais	Tratamentos	Dias de coleta					
		1 (AT)	1 (DPT)	8 (DPT)	15 (DPT)	22 (DPT)	29 (DPT)
Padrão fisiológico	T1	n=8	n=8	n=8	n=8	n=8	n=8
Tratado semanalmente	T2	n=8	n=8	n=8	n=8	n=8	n=8
Tratado quinzenalmente	T3	n=8	n=8	n=8	n=8	n=8	n=8
Tratado mensalmente	T4	n=8	n=8	n=8	n=8	n=8	n=8

T1= Não tratado ; T2, T3 e T4 = Tratado com dose recomendada pelo fabricante.

## 2.4 Tratamento com suplemento contendo aminoácidos e vitaminas

Para a realização do presente estudo, a aplicação subcutânea do suplemento orgânico foi realizada na região dorso-lateral direita do pescoço, na dose de 10 mL/animal, em conformidade ao protocolo proposto em bula pelo fabricante (Figura 1).



Figura 1. Administração do tratamento com composto de aminoácidos e vitaminas por via subcutânea.

## 2.5 Avaliação da produtividade leiteira

A produtividade leiteira das vacas foi avaliada nos dias -3, -2 e -1 antes do tratamento, para randomização dos grupos a partir dos valores médios de produção. Após o tratamento, o estudo comparativo da quantidade de leite produzido foi determinado nos dias 1, 8, 15, 22 e 29 após o tratamento. Para a avaliação da produtividade leiteira, cada vaca foi ordenhada e o leite acondicionado em recipiente plástico para determinação do peso da amostra, como ilustrado na Figura 2.



Figura 2 - Pesagem manual do leite após ordenha de cada animal.

## 2.6 Análise físico-química do leite e contagem de células somáticas totais (CCS)

Nos períodos AT, 1, 8, 15, 22 e 29 pós-tratamento, foram coletados na ordenha da manhã duas amostra de leite de cada vaca separadamente, realizando-

se a homogeneização na primeira amostra, sendo adicionado nestas uma pastilha de conservante “bronopol” para avaliação do teor de gordura, proteína, lactose, sódios totais e extrato seco desengordurado, sendo realizada eletronicamente por absorção infravermelha no equipamento BENTLEY (modelo 2000) e a CCS foi analisada por meio de contagem eletrônica por citometria fluxométrica, utilizando-se o equipamento BENTLEY - SOMACOUNT (modelo 3001). Em experimento anterior, realizado com amostras preservadas com este conservante, não foi observada nenhuma influência deste sobre as análises físico-químicas [6]. Enquanto, na segunda amostra, foi adicionado quatro gotas do conservante “azidiol” para avaliação da contagem bacteriana total (CBT). Todas as amostras permaneceram sob refrigeração a 4°C, desde o momento da coleta até a realização da análise na clínica do leite “ESALQ-USP” (Piracicaba-SP).

## **2.7 Contagem bacteriana total (CBT)**

As amostras de leite conservadas em “azidiol” foram mantidas sobre refrigeração a 4°C desde a coleta até a análise da contagem bacteriana total (CBT) na clínica do leite da “ESALQ-USP” (Piracicaba-SP). A CBT foi analisada por meio da metodologia de citometria de fluxo, utilizando-se o equipamento IBC (modelo Bactocount 1).

## **2.8 Colheita de sangue**

Foram realizadas colheitas de amostras de sangue para avaliação clínico-hematológica dos bovinos, por punção da veia jugular, aliqotado em dois conjuntos de seringas descartáveis de 5 mL (agulhas 40x16), sendo que o primeiro “set” de seringas foi rinçado com 50 µL de anticoagulante EDTA para a colheita de plasma e o segundo sem anticoagulante para obtenção de soro. As Tabelas 2 e 3 apresentam os parâmetros do hemograma e bioquímicos, respectivamente, avaliados no estudo clínico-hematológico, assim como, o volume de amostra destinado a cada análise.

Tabela 2 - Parâmetros hematológicos avaliados em sangue total, colhido com anticoagulante, para determinação da segurança clínica do tratamento com administração subcutânea com composto de aminoácidos e vitaminas em vacas leiteiras.

Tipo de análise		Parâmetro	Volume de amostra
Sangue total	hemograma	Eritograma Leucograma Trombograma Hematócrito	1 mL

Tabela 3 - Parâmetros bioquímicos avaliados em amostras de soro colhidas para determinação da segurança clínica do tratamento com administração subcutânea de composto de aminoácidos e vitaminas em vacas leiteiras.

Tipo de análise		Parâmetro	Volume de amostra
Sorológica	Bioquímico	Albumina sérica	10 <input type="checkbox"/> L
		Fosfatase alcalina	20 <input type="checkbox"/> L
		ALT	100 <input type="checkbox"/> L
		AST	100 <input type="checkbox"/> L
		GGT	50 <input type="checkbox"/> L
		LDH	20 <input type="checkbox"/> L
		Triglicerídeos	10 <input type="checkbox"/> L
		Ureia	10 <input type="checkbox"/> L
		Creatinina	100 <input type="checkbox"/> L
		Bilirrubina	100 <input type="checkbox"/> L
		Colesterol	20 <input type="checkbox"/> L
		Glicemia	10 <input type="checkbox"/> L

## 2.9 Determinação do perfil bioquímico

Após a centrifugação das amostras de sangue sem anticoagulante (5000 rpm/10 minutos), o soro dos animais foi separado para determinação dos níveis séricos de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), gama-glutamilttransferase (GGT), fosfatase alcalina (FA), albumina, ureia, creatinina, bilirrubina total e direta, triglicerídeos e colesterol, realizadas enzimática e colorimetricamente em analisador bioquímico semi-automático, modelo LabQuest.

## **2.10 Determinação do hemograma**

Para determinação do eritrograma foi utilizado contador automático de células sanguíneas (Modelo CC510, da Celm). A contagem de leucócitos e plaquetas foi realizada manualmente em câmara de Neubauer. O percentual de volume globular foi determinado em tubos capilares de micro-hematócrito, centrifugados 5 minutos a 3000 rpm. No momento da coleta de sangue, pequenas amostras foram destinadas a confecção de extensões sanguíneas para a contagem diferencial de leucócitos. Após coloração com May-Grünwald-Giensa-Wright, foi realizada com a contagem de 200 células, estabelecendo o percentual de cada tipo celular.

## **2.11 Avaliação clínica e comportamental**

Durante o período experimental nos momentos de coleta, foram observadas as possíveis ocorrências de alterações clínicas e comportamentais dos animais submetidos ao tratamento com o suplemento. Os parâmetros fisiológicos, tais como: frequência respiratória, temperatura dorso-lateral esquerda e temperatura dorso-lateral direita no local da aplicação foram aferidos, analisados e discutidos neste estudo.

## **2.12 Análise estatística**

Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância através de delineamento inteiramente casualizado em parcela subdividida no tempo, tendo como tratamentos principais os grupos experimentais (quatro tratamentos) e as subparcelas os períodos experimentais (seis momentos de colheita), utilizando-se o pacote estatístico SAS, pelo procedimento PROC GLM, versão 8.2 (SAS, 2001). As comparações múltiplas foram aferidas pelo Teste de Tukey ao nível de 95% de confiança [7].

### **3. RESULTADOS**

Os resultados observados nas análises dos parâmetros produtivos, clínicos, de qualidade do leite, bioquímicos e hematológicos estão expressos nos itens de 6.1 a 6.4, respectivamente.

#### **3.1 Produção de leite e parâmetros clínicos**

A Tabela 4 expressa os valores médios e análise de variância estatística observados para a produção leiteira, frequência respiratória, temperatura cervical esquerda e direita, assim como, a amplitude de variação térmica cutânea de vacas lactantes submetidas ao tratamento parenteral com o suplemento contendo aminoácidos e vitaminas.

Apesar de se observar aumento na produção leiteira de animais tratados semanalmente e mensalmente com o suplemento quando comparados ao grupo controle (Tabela 5), não se observou variações significativas ( $P>0,05$ ) na quantidade de leite produzido (Tabelas 4 e 5). Por outro lado, constatou-se alterações significativas ( $P<0,01$ ) na frequência respiratória e na amplitude de variação térmica dos animais tratados. No desdobramento estatístico dos dados na Tabela 5, verificou-se que ocorreu aumento na frequência respiratória em animais tratados semanalmente. Tais achados sugerem que o manejo de contenção e administração do suplemento possa ter resultado em estresse das vacas.



Tabela 4 - Valores médios (n=8) e análise de variância estatística<sup>1</sup> para a produção leiteira, frequência respiratória, temperatura cutânea esquerda e direita de vacas submetidas ao tratamento com composto de aminoácidos e vitaminas.

TRATAMENTO	TEMPO <sup>2</sup>	Produção	Freq. Resp	Temp. Esquerda	Temp. Direita	$\Delta T^3$
		(L/dia)	(min.)	(°C)	(°C)	(°C)
CONTROLE	0	10.675	24.0	28.5	28.5	0.00
	1	8.575	24.5	29.7	30.1	0.43
	8	9.957	25.7	30.6	31.0	0.35
	15	9.542	21.1	30.7	30.7	0.00
	22	10.171	23.4	29.1	29.5	0.35
	29	9.857	26.8	31.0	31.0	0.07
MENSAL	0	10.475	24.5	28.2	28.2	0.00
	1	10.287	30.0	29.6	30.1	0.50
	8	10.057	27.4	30.5	30.8	0.28
	15	10.757	26.8	28.7	29.3	0.62
	22	10.757	22.2	28.9	29.0	0.14
	29	10.000	26.2	31.0	31.1	0.14
QUINZENAL	0	10.150	24.5	28.6	28.6	0.00
	1	10.212	25.0	29.8	30.9	1.06
	8	8.816	25.3	30.4	30.6	0.25
	15	9.466	21.3	29.5	29.9	0.33
	22	9.450	24.6	28.3	28.5	0.25
	29	9.500	23.3	30.6	31.1	0.50
SEMANAL	0	10.275	33.0	28.7	28.7	0.00
	1	10.162	28.5	28.9	29.8	0.87
	8	10.500	32.0	28.2	28.5	0.30
	15	10.620	24.8	28.9	29.1	0.20
	22	10.400	23.2	27.5	28.0	0.50
	29	10.100	28.8	29.7	29.8	0.10
Tratamento		NS	**	**	**	NS
Tempo		NS	**	**	**	**
Tratamento X Tempo		NS	NS	NS	NS	NS
Valor de F		0.16	2.10	3.06	2.90	1.90
Pr>F		1.00	0.0002	<0001	<0001	0.0021
CV (%)		36.27	22.81	4.92	5.06	165.43

<sup>1</sup> Análise de variância estatística pelo teste de Tukey: NS = não significativo, \* = significativo a  $P \leq 0,05$ , \*\* = significativo a  $P \leq 0,01$

<sup>2</sup> Tempo em dias após o tratamento com composto de aminoácidos e vitaminas

<sup>3</sup> Amplitude de variação térmica = Temp.Cutânea Direita - Temp. Cutânea esquerda

Tabela 5 - Valores médios (n=48) e análise de significância estatística<sup>1</sup> na comparação entre os tratamentos para produção de leite e parâmetros clínicos de vacas mestiças tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.

Tratamentos	Prod. de leite	Freq. Resp.	T° Cervical esq. (C°)	T° Cervical dir. (Apli.) (C°)	$\Delta T^{\circ 2}$ (C°)
Controle	9.79 <sup>A</sup>	23.33 <sup>B</sup>	29.80 <sup>A</sup>	30.01 <sup>A</sup>	0.21 <sup>A</sup>
Mensal	10.42 <sup>A</sup>	24.87 <sup>B</sup>	29.57 <sup>A</sup>	29.82 <sup>A</sup>	0.24 <sup>A</sup>
Quinzenal	9.67 <sup>A</sup>	23.08 <sup>B</sup>	29.49 <sup>A</sup>	29.83 <sup>A</sup>	0.34 <sup>A</sup>
Semanal	10.17 <sup>A</sup>	27.22 <sup>A</sup>	28.53 <sup>B</sup>	28.87 <sup>B</sup>	0.34 <sup>A</sup>
Valor de F	0.16	7.44	8.82	6.69	1.66
PR>F	0.99	<.0001	<.0001	0.0002	0.1755

<sup>1</sup> Médias seguidas por letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05)

<sup>2</sup> Amplitude de variação térmica = Temp.Cutânea Direita - Temp. Cutânea esquerda

A Tabela 6 apresenta o desdobramento estatístico para produção leiteira e parâmetros clínicos entre os diferentes dias analisados. Observou-se neste estudo que a frequência respiratória e a amplitude de variação térmica entre o lado esquerdo e direito foram significativamente (P<0,01) maiores no início do estudo, principalmente, após 24 horas da aplicação inicial do suplemento.

Tabela 6 - Valores médios (n=32) e análise de significância estatística<sup>1</sup> na comparação entre os períodos analisados para produção de leite e parâmetros clínicos de vacas mestiças tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.

Dia analisado	Prod. de leite	Freq. Resp.	T° Cervical esq. (C°)	T° Cervical dir. (Apli.) (C°)	$\Delta T^{\circ 2}$ (C°)
0	10.99 <sup>A</sup>	26.50 <sup>A</sup>	28.53 <sup>C</sup>	28.53 <sup>D</sup>	0.00 <sup>C</sup>
1	9.80 <sup>A</sup>	27.00 <sup>A</sup>	29.56 <sup>B</sup>	30.28 <sup>AB</sup>	0.71 <sup>A</sup>
8	9.83 <sup>A</sup>	27.61 <sup>A</sup>	29.95 <sup>AB</sup>	30.25 <sup>AB</sup>	0.29 <sup>B</sup>
15	10.09 <sup>A</sup>	23.53 <sup>B</sup>	29.46 <sup>B</sup>	29.78 <sup>BC</sup>	0.29 <sup>B</sup>
22	10.19 <sup>A</sup>	23.39 <sup>B</sup>	28.47 <sup>C</sup>	28.78 <sup>D</sup>	0.31 <sup>B</sup>
29	9.86 <sup>A</sup>	26.31 <sup>AB</sup>	30.59 <sup>A</sup>	30.79 <sup>A</sup>	0.20 <sup>BC</sup>
V F	0.56	3.81	7.78	8.40	4.71
PR>F	0.64	0.0002	<.0001	<.0001	<.0001

<sup>1</sup> Médias seguidas por letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05)

<sup>2</sup> Amplitude de variação térmica = Temp.Cutânea Direita - Temp. Cutânea esquerda

Tais achados confirmam hipótese de que o manejo de contenção e administração do suplemento tenha estressado os animais, associado ao aumento

da temperatura no local de administração do composto 24 horas após o tratamento inicial, momento em que o processo inflamatório foi mais intenso. Porém ambos os parâmetros clínicos se normalizam ao longo do estudo, demonstrando que estes efeitos foram transitórios (Tabela 6).

### **3.2. Análise do leite**

A Tabela 7 apresenta os valores médios e análise de significância estatística para a determinação de gordura, proteína, lactose, sólidos totais (ST) e extrato seco desengordurado (ESD) presente no leite de vacas submetidas a suplementação nas diferentes posologias. Apesar da baixa confiabilidade estatística, houve diferença entre os tratamentos para estes parâmetros, sendo realizado o desdobramento estatístico destes achados (Tabela 8).

Neste estudo, notou-se aumento significativo ( $P < 0,05$ ) de proteínas, lactose e ESD, associado à diminuição da gordura no leite de vacas tratadas semanalmente com o suplemento quando comparadas ao leite de animais controles (Tabela 8). Não se observou alterações significativas na quantidade de sólidos totais presentes no leite das vacas submetidas aos diferentes tratamentos.

Por outro lado, as vacas tratadas quinzenalmente apresentaram os maiores valores médios observados para a presença de gordura no leite (Tabela 8).

Tabela 7 - Valores médios (n=8) e análise de variância estatística<sup>1</sup> para a análise de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado no leite de vacas lactantes tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.

TRATAMENTO	TEMPO <sup>2</sup>	Gordura (% m/m)	Proteína (% m/m)	Lactose (% m/m)	ST <sup>3</sup> (% m/m)	ESD <sup>3</sup> (% m/m)
IN62 <sup>4</sup>	.	3.000	2.900	4.300	11.500	8.400
CONTROLE	0	3.596	3.301	4.300	12.131	8.535
	1	3.088	3.275	4.440	11.715	8.626
	8	3.368	3.368	4.576	12.235	8.866
	15	3.321	3.470	4.451	12.178	8.857
	22	3.745	3.550	4.391	12.635	8.890
	29	3.390	3.493	4.418	12.250	8.860
MENSAL	0	3.105	3.036	4.490	11.533	8.428
	1	3.031	2.997	4.457	11.388	8.357
	8	3.065	3.060	4.507	11.544	8.478
	15	3.347	3.085	4.491	11.860	8.512
	22	3.395	3.228	4.460	12.020	8.624
	29	3.485	3.137	4.384	11.935	8.450
QUINZENAL	0	3.622	3.327	4.402	12.294	8.671
	1	3.561	3.357	4.435	12.290	8.728
	8	3.761	3.356	4.521	12.568	8.806
	15	4.063	3.448	4.485	12.945	8.881
	22	3.910	3.531	4.470	12.858	8.948
	29	3.953	3.521	4.458	12.873	8.920
SEMANAL	0	3.135	3.484	4.625	12.175	9.040
	1	3.383	3.543	4.528	12.400	9.016
	8	3.100	3.440	4.724	12.206	9.106
	15	3.056	3.430	4.682	12.130	9.074
	22	2.962	3.550	4.728	12.208	9.246
	29	3.188	3.464	4.740	12.346	9.158
Tratamento		*	**	**	**	**
Tempo		NS	NS	NS	NS	NS
Tratamento X Tempo		NS	NS	NS	NS	NS
Valor de F		0.65	1.34	0.96	0.78	1.31
Pr>F		0.8855	0.1511	0.5200	0.7515	0.1691
CV (%)		28.51	11.63	8.70	9.11	6.55

<sup>1</sup> Análise de variância estatística pelo teste de Tukey: NS = não significativo, \* = significativo a  $P \leq 0,05$ , \*\* = significativo a  $P \leq 0,01$

<sup>2</sup> Tempo em dias após o tratamento com composto de aminoácidos e vitaminas

<sup>3</sup> ST= Sólidos totais; ESD = Extrato seco desengordurado.

<sup>4</sup> Instrução Normativa 62 que regulamenta a qualidade do leite cru (MAPA, 2011).

Tabela 8 - Valores médios (n=48) e análise de significância estatística<sup>1</sup> na comparação entre os tratamentos de gordura, proteína, lactose, ST e ESD presente no leite de vacas mestiças tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.

Tratamentos	GOR (% m/m)	PROT (% m/m)	LACT (% m/m)	ST (% m/m)	ESD (% m/m)
IN62 <sup>2</sup>	3.00	2.90	4.30	11.50	8.40
Controle	3.65 <sup>AB</sup>	3.43 <sup>A</sup>	4.31 <sup>B</sup>	12.34 <sup>A</sup>	8.68 <sup>BC</sup>
Mensal	3.28 <sup>BC</sup>	3.11 <sup>B</sup>	4.44 <sup>B</sup>	11.76 <sup>B</sup>	8.47 <sup>C</sup>
Quinzenal	3.84 <sup>A</sup>	3.42 <sup>A</sup>	4.43 <sup>B</sup>	12.65 <sup>A</sup>	8.80 <sup>B</sup>
Semanal	3.19 <sup>C</sup>	3.50 <sup>A</sup>	4.64 <sup>A</sup>	12.29 <sup>A</sup>	9.09 <sup>A</sup>
Valor de F	3.43	8.77	4.32	4.5	7.72
PR>F	0.0189	<.0001	0.006	0.0048	<.0001

<sup>1</sup> Médias seguidas por letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05)

<sup>2</sup> Instrução Normativa 62 que regulamenta a qualidade do leite cru (MAPA, 2011).

A Tabela 9 apresenta os valores médios e análise de variância estatística da contagem de células somáticas (CCS), quantidade de caseína, a proporção percentual de caseína em relação às proteínas totais, crioscopia e nitrogênio ureico presentes no leite de vacas suplementadas com aminoácidos e vitaminas nas diferentes posologias.

A quantidade de caseína presente no leite e o percentual de caseína em relação às proteínas totais foram fortemente influenciados pela administração do suplemento, ocorrendo aumento significativo (P<0,05) em animais tratados semanalmente quando comparados ao grupo controle (Tabelas 9 e 10).

Observou-se diminuição significativa na contagem de células somáticas em animais tratados quando comparados ao grupo controle. O desdobramento estatístico destes achados (Tabela 10) revelou efeito da frequência do tratamento sobre esta resposta celular somática no leite das vacas, ocorrendo significativa redução no número de células presentes no leite de vacas tratadas semanalmente em relação aos animais do grupo controle.

Tabela 9 - Valores médios (n=8) e análise de variância estatística<sup>1</sup> para a determinação da contagem de células somáticas, caseína percentual de caseína no total proteico, crioscopia e nitrogênio ureico presentes no leite de vacas tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.

TRATAMENTO	TEMPO <sup>2</sup>	CCS (10 <sup>3</sup> /mL)	Cas (% m/m)	Pcas (% da Prot.)	CRI (m <sup>o</sup> H)	NU (mg/dL)
IN62 <sup>3</sup>	.	600.000	.	.	512.000	.
CONTROLE	0	555.666	2.513	76.111	539.333	10.483
	1	570.500	2.513	76.693	542.333	12.520
	8	462.166	2.596	77.058	544.833	12.600
	15	673.714	2.680	77.208	543.285	11.671
	22	849.285	2.728	76.828	551.428	13.500
	29	256.333	2.700	77.253	545.500	11.800
MENSAL	0	234.166	2.326	76.465	548.666	14.700
	1	608.285	2.282	75.904	543.571	15.657
	8	558.571	2.364	77.092	547.857	15.242
	15	283.428	2.398	77.511	546.714	12.557
	22	396.714	2.502	77.368	553.571	15.342
	29	233.000	2.420	76.851	545.428	12.928
QUINZENAL	0	340.000	2.550	76.610	546.571	10.600
	1	313.857	2.574	76.638	548.571	12.671
	8	194.666	2.595	77.250	545.500	11.633
	15	165.333	2.688	77.905	546.333	10.316
	22	513.500	2.741	77.533	553.500	12.900
	29	233.500	2.731	77.580	550.166	12.066
SEMANAL	0	174.857	2.702	77.595	547.285	13.142
	1	401.875	2.736	77.287	545.375	11.987
	8	115.400	2.698	78.420	548.600	10.480
	15	112.600	2.712	79.050	546.600	8.220
	22	59.600	2.798	78.802	556.600	12.380
	29	79.400	2.734	78.888	555.800	14.440
Tratamento		NS	**	**	*	NS
Tempo		*	NS	*	**	NS
Tratamento X Tempo		NS	NS	NS	NS	NS
Valor de F		0.91	1.36	1.35	1.48	0.63
Pr>F		0.5822	0.1389	0.1466	0.0880	0.8979
CV (%)		219.10	12.49	2.71	1.83	46.10

<sup>1</sup> Análise de variância estatística pelo teste de Tukey: NS = não significativo, \* = significativo a  $P \leq 0,05$ , \*\* = significativo a  $P \leq 0,01$

<sup>2</sup> Tempo em dias após o tratamento com composto de aminoácido e vitaminas

<sup>3</sup> Instrução Normativa 62 que regulamenta a qualidade do leite cru (MAPA, 2011).

No estudo da crioscopia (Tabela 9 e 10), verificou-se aumento no afastamento ( $P < 0,05$ ) da temperatura de congelamento da água de 0°C no leite de animais suplementados em todos os regimes de tratamento quando comparados ao grupo controle, porém observou-se um aumento gradativo em relação à frequência de administração, sendo mais expressivo o aumento em vacas tratadas semanalmente. Por outro lado, Não se observou variações significativas na quantidade de nitrogênio ureico presente no leite das vacas submetidas aos diferentes tratamentos (Tabela 9 e 10).

Tabela 10 - Valores médios (n=48) e análise de significância estatística<sup>1</sup> na comparação entre os tratamentos para a contagem de células somáticas (CCS), quantidade de caseína, a proporção percentual de caseína em relação às proteínas totais, crioscopia e nitrogênio ureico presentes no leite de vacas mestiças tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.

Tratamentos	CCS (x mil/mL)	CAS (% m/m)	PCAS (% da Prot.)	CRI (m <sup>o</sup> H)	NU (mg/dL)
IN62 <sup>2</sup>	600.000	.	.	512.00	.
Controle	561.277 <sup>A</sup>	2.62 <sup>A</sup>	76.37 <sup>B</sup>	542.60 <sup>B</sup>	11.74 <sup>A</sup>
Mensal	385.694 <sup>A</sup>	2.39 <sup>B</sup>	76.80 <sup>B</sup>	547.63 <sup>A</sup>	14.27 <sup>A</sup>
Quinzenal	293.476 <sup>A</sup>	2.64 <sup>A</sup>	77.12 <sup>B</sup>	547.70 <sup>A</sup>	11.65 <sup>A</sup>
Semanal	157.287 <sup>A</sup>	2.73 <sup>A</sup>	78.25 <sup>A</sup>	549.51 <sup>A</sup>	11.58 <sup>A</sup>
Valor de F	1.90	8.52	4.8	3.26	2.29
PR>F	0.1322	<.0001	0.0033	0.023	0.0808

<sup>1</sup> Médias seguidas por letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ )

<sup>2</sup> Instrução Normativa 62 que regulamenta a qualidade do leite cru (MAPA, 2011).

### 3.3. Bioquímica sérica

Os resultados observados no estudo bioquímico de atividade sérica das enzimas ALT, AST, GGT, FA e LDH estão expressos nas Tabelas 11 e 12. A análise comparativa da atividade enzimática sérica das vacas submetidas aos diferentes tratamentos revelou aumento significativo ( $P < 0,05$ ) de ALT, AST e LDH em animais tratados, sendo este efeito dose-dependente (Tabelas 11 e 12). Os níveis plasmáticos de GGT também aumentaram nos animais tratados, apesar destes achados não serem estatisticamente significativos ( $P > 0,05$ ).

Tabela 11 - Valores médios (n=8) e análise de variância estatística<sup>1</sup> para a análise de AST, ALT, GGT, FA e LDH sérica em vacas lactantes tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.

TRATAMENTO	TEMPO <sup>2</sup>	Parâmetro bioquímico <sup>3</sup>				
		ALT	AST	GGT	FA	LDH
Valor referência <sup>4</sup>	.	14 a 38	78 a 132	11 a 24	90 a 170	08 a 302
CONTROLE	0	25.83	69.16	42.90	103.00	242.2
	1	25.80	78.20	44.36	99.80	197.7
	8	28.50	68.33	43.76	118.33	252.5
	15	31.71	67.57	45.15	102.42	239.7
	22	30.28	67.71	45.48	103.71	240.1
	29	31.00	73.00	43.33	86.00	254.0
MENSAL	0	34.16	78.33	48.85	71.33	240.8
	1	36.16	80.66	48.85	69.16	199.9
	8	34.33	77.16	51.38	88.00	197.4
	15	36.14	73.57	50.25	89.51	236.9
	22	34.71	72.00	51.34	86.14	206.4
	29	34.57	78.28	50.24	76.28	225.8
QUISENAL	0	29.42	75.85	47.68	84.71	267.8
	1	29.42	78.00	48.44	85.00	256.3
	8	30.00	78.83	50.96	96.16	266.3
	15	32.66	71.16	50.98	110.00	256.2
	22	32.66	75.50	52.25	101.83	250.1
	29	30.83	86.00	53.51	88.16	257.4
SEMANAL	0	30.28	80.42	46.61	75.28	282.4
	1	31.62	81.50	44.27	81.25	270.7
	8	33.00	83.20	51.50	79.00	265.6
	15	33.00	79.00	53.22	83.88	214.5
	22	33.00	80.00	53.52	94.20	251.1
	29	34.00	81.00	52.52	82.75	242.8
Tratamento		**	*	NS	NS	**
Tempo		NS	NS	NS	NS	NS
Tratamento X Tempo		NS	NS	NS	NS	NS
Valor de F		1.69	0.69	0.54	1.37	1.09
Pr>F		0.0342	0.8497	0.9578	0.1367	0.3678
CV (%)		17.98	21.13	24.13	155.39	23.19

<sup>1</sup> Análise de variância estatística pelo teste de Tukey: NS = não significativo, \* = significativo a  $P \leq 0,05$ , \*\* = significativo a  $P \leq 0,01$ .

<sup>2</sup> Tempo em dias após o tratamento com composto de aminoácidos e vitaminas.

<sup>3</sup> ALT= Alanina aminotransferase; AST = Aspartato aminotransferase; GGT= Gama glutamil transferase; FA=Fosfatase alcalina; LDH= Lactato desidrogenase.

<sup>4</sup> Laboratório de Patologia Clínica da Unesp de Jaboticabal/SP.



A atividade sérica da FA e GGT não sofreu variações significativas ( $P>0,05$ ) ao longo do estudo com vacas mestiças submetidas a suplementação com aminoácidos e vitaminas (Tabelas 11 e 12). Apesar da atividade sérica de ALT, AST e LDH estarem dentro dos padrões de normalidade para a espécie, observou-se aumento significativo ( $P<0,05$ ) em animais tratados semanalmente quando comparados ao grupo controle tratado com solução fisiológica.

Tabela 12 - Valores médios (n=48) e análise de significância estatística<sup>1</sup> na comparação entre os tratamentos para ALT, AST, GGT, FA e LDH presentes no sangue de vacas mestiças tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.

Tratamentos	Parâmetro bioquímico <sup>2</sup>				
	ALT U/L	AST U/L	GGT U/L	FA U/L	LDH U/L
Valor referência <sup>3</sup>	14 a 38	78 a 132	11 a 24	90 a 170	08 a 302
Controle	28.81 <sup>C</sup>	69.31 <sup>B</sup>	44.76 <sup>A</sup>	97.97 <sup>A</sup>	238.37 <sup>AB</sup>
Mensal	34.74 <sup>A</sup>	76.10 <sup>A</sup>	49.98 <sup>A</sup>	80.30 <sup>A</sup>	218.33 <sup>B</sup>
Quinzenal	30.69 <sup>BC</sup>	77.29 <sup>A</sup>	50.01 <sup>A</sup>	94.02 <sup>A</sup>	258.64 <sup>A</sup>
Semanal	32.39 <sup>AB</sup>	80.80 <sup>A</sup>	50.41 <sup>A</sup>	82.71 <sup>A</sup>	254.74 <sup>A</sup>
Valor de F	8.5	3.64	1.93	0.97	4.54
PR>F	<.0001	0.0144	0.1276	0.4099	0.004

<sup>1</sup> Médias seguidas por letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ )

<sup>2</sup> ALT= Alanina aminotransferase; AST = Aspartato aminotransferase; FA=Fosfatase alcalina; GGT= Gama Glutamil Transferase; LDH= Lactato desidrogenase.

<sup>3</sup> Laboratório de Patologia Clínica da Unesp de Jaboticabal/SP.

Os resultados observados após a suplementação sobre os níveis sanguíneos de glicose, triglicerídeos, colesterol, proteínas totais, albumina, ureia e creatinina estão expressos nas Tabelas 13 e 14.

Não se observou variações significativas ( $P>0,05$ ) nos níveis circulantes de triglicerídeos, colesterol, proteínas totais e creatinina após o tratamento. No entanto, verificou-se aumento nos níveis séricos de albumina ( $P<0,05$ ) e diminuição significativa ( $P<0,05$ ) de ureia circulante em animais tratados semanalmente, porém os valores observados se encontram dentro da normalidade para vacas em lactação.

Tabela 13 - Valores médios (n=8) e análise de variância estatística<sup>1</sup> para a análise de glicemia, triglicerídeos, colesterol, proteínas totais, albumina, ureia e creatinina sanguínea em vacas lactantes tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.

TRATAMENTO	TEMPO <sup>2</sup>	Parâmetro Bioquímico <sup>3</sup>						
		Glicemia	TG	Colesterol	PT	Albumina	Uréia	Creatinina
Valor referência <sup>4</sup>	.	45 a 75	.	80 a 180	6,3 a 8,9	2,8 a 3,8	12 a 65	0,8 a 1,4
CONTROLE	0	39,16	9,00	341,50	7,81	2,55	39,33	0,90
	1	31,60	40,60	362,50	8,02	2,75	42,60	0,90
	8	44,83	13,83	359,00	8,08	2,70	45,16	0,92
	15	43,00	5,28	319,71	7,54	3,09	41,28	0,96
	22	44,17	35,14	347,28	7,62	2,98	47,28	0,89
	29	45,33	5,80	372,83	7,54	2,59	40,33	0,93
MENSAL	0	45,33	7,83	395,33	8,21	2,51	49,66	0,87
	1	34,66	65,83	349,40	8,14	3,11	55,66	0,83
	8	36,66	5,66	341,16	8,03	2,69	51,50	0,83
	15	45,71	6,28	380,85	7,57	2,82	39,42	0,89
	22	45,71	5,60	387,00	8,04	2,77	48,57	0,84
	29	46,42	6,42	427,85	7,78	2,53	40,71	0,87
QUISENAL	0	49,28	11,28	375,80	8,31	2,58	37,14	0,86
	1	46,28	50,42	393,85	8,38	2,58	41,57	0,86
	8	47,66	6,16	420,50	8,15	3,06	38,83	0,90
	15	48,33	5,50	404,83	7,85	2,68	33,50	0,97
	22	48,50	8,00	391,16	7,66	2,50	44,83	0,92
	29	49,33	9,83	397,83	8,10	2,47	38,00	0,95
SEMANAL	0	42,42	7,57	392,57	7,82	2,99	43,42	0,80
	1	42,75	27,62	390,25	7,87	2,84	42,00	0,83
	8	40,20	11,40	313,60	8,04	3,17	32,80	0,88
	15	32,80	13,80	248,08	7,48	3,89	29,60	0,92
	22	39,60	8,40	368,00	7,42	2,84	44,20	0,90
	29	43,40	35,75	338,20	7,32	2,83	42,80	0,90
Tratamento		**	NS	NS	NS	*	*	NS
Tempo		NS	**	NS	NS	*	NS	NS
Tratamento X Tempo		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Valor de F		1.45	2.90	0.78	1.32	1.64	1.05	0.48
Pr>F		0.0990	<0.001	0.7530	0.1653	0.0431	0.4037	0.9773
CV (%)		21.10	125.91	28.86	90.94	21.10	33.84	17.85

<sup>1</sup> Análise de variância estatística pelo teste de Tukey: NS = não significativo, \* = significativo a  $P \leq 0,05$ , \*\* = significativo a  $P \leq 0,01$ .

<sup>2</sup> Tempo em dias após o tratamento com composto de aminoácidos e vitaminas.

<sup>3</sup> TG= Triglicerídeos; PT= Proteínas totais.

<sup>4</sup> Laboratório de Patologia Clínica da Unesp de Jaboticabal/SP.

Tabela 14 - Valores médios (n=48) e análise de significância estatística<sup>1</sup> na comparação entre os tratamentos para glicemia, triglicerídeos, colesterol, proteínas totais, albumina, ureia e creatinina presentes no sangue de vacas mestiças tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.

Tratamentos	Parâmetros Bioquímicos <sup>2</sup>						
	Glicemia	TG	Colesterol	PT	Albumina	Uréia	Creatinina
	mg/dL	mg/dL	mg/dL	g/dL	g/dL	mg/dL	mg/dL
Valor referência <sup>3</sup>	45 a 75	.	80 a 180	6,3 a 8,9	2,8 a 3,8	12 a 65	0,8 a 1,4
Controle	43.32 <sup>B</sup>	20.33 <sup>A</sup>	346.33 <sup>A</sup>	7.76 <sup>A</sup>	2.72 <sup>B</sup>	42.38 <sup>AB</sup>	0.88 <sup>A</sup>
Mensal	42.91 <sup>B</sup>	17.00 <sup>A</sup>	386.41 <sup>A</sup>	7.93 <sup>A</sup>	2.72 <sup>B</sup>	46.98 <sup>A</sup>	0.85 <sup>A</sup>
Quinzenal	47.95 <sup>A</sup>	14.45 <sup>A</sup>	395.84 <sup>A</sup>	8.12 <sup>A</sup>	2.64 <sup>B</sup>	38.61 <sup>B</sup>	0.91 <sup>A</sup>
Semanal	40.95 <sup>B</sup>	18.72 <sup>A</sup>	340.79 <sup>A</sup>	7.66 <sup>A</sup>	3.08 <sup>A</sup>	38.79 <sup>B</sup>	0.87 <sup>A</sup>
Valor de F	3.79	0.27	2.25	1.02	3.73	2.9	1.05
PR>F	0.01	0.8459	0.0859	0.3849	0.01	0.0375	0.3745

<sup>1</sup> Médias seguidas por letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05)

<sup>2</sup> TG= Triglicerídeos; PT= Proteínas totais.

<sup>3</sup> Laboratório de Patologia Clínica da Unesp de Jaboticabal/SP.

### 3.4. Estudo hematológico

Os resultados observados no estudo eritrocitário das vacas leiteiras tratadas com o suplemento de aminoácidos e vitaminas estão expressos nas Tabelas 15 e 16. O estudo hematológico revelou aumento no volume corpuscular médio das hemácias, no percentual de hematócrito, nos valores de hemoglobina e na hemoglobina corpuscular média e na concentração de hemoglobina corpuscular média de animais tratados semanalmente. No entanto, somente o VCM e HCM foram estatisticamente superiores em relação ao grupo controle (Tabela 16).

Tabela 15 - Valores médios (n=8) e análise de variância estatística<sup>1</sup> para contagem global de eritrócitos, hematócrito, VCM, hemoglobina, HCM, CHCM e plaquetas em vacas lactantes tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.

TRATAMENTO	TEMP O <sup>1</sup>	Eritr. X10 <sup>6</sup> /uL	Hemat. %	VCM fL	Hg. g/dL	HCM g/dL	CHCM g/dL	Plaq uL
Valor referência <sup>4</sup>	.	5,0 a 10,0	24 a 48	40 a 60	8,0 a 14,0	14,0 a 18,0	26 a 34	200 a 600
CONTROLE	0	6.756	31.966	47.466	10.616	15.766	33.266	447.166
	1	6.701	31.833	47.633	10.433	15.616	32.800	456.166
	8	6.675	31.833	47.866	10.483	15.766	32.933	279.833
	15	6.518	30.814	47.357	10.314	15.842	33.471	252.428
	22	6.561	31.142	47.471	10.385	15.785	33.342	333.428
	29	6.500	30.683	47.266	10.183	15.666	33.166	364.000
MENSAL	0	6.423	30.150	47.000	10.033	15.633	33.116	400.500
	1	6.402	29.514	46.200	9.657	15.100	32.600	393.857
	8	6.438	29.642	46.228	9.714	15.142	32.614	257.428
	15	6.500	29.800	45.957	9.842	15.142	32.842	323.285
	22	6.441	29.485	45.828	9.785	15.185	32.985	349.428
	29	6.440	29.257	45.514	9.685	15.042	32.957	344.142
QUISENAL	0	6.084	29.428	48.557	9.557	15.757	32.428	303.714
	1	6.188	30.000	48.600	9.671	15.671	32.285	338.285
	8	6.133	30.233	49.350	9.800	15.966	32.383	237.666
	15	6.145	30.166	49.150	9.700	15.833	32.216	219.833
	22	6.048	29.800	49.250	9.633	15.933	32.350	255.833
	29	5.228	29.500	72.683	9.10	21.216	30.833	293.400
SEMANAL	0	6.378	30.957	48.885	10.257	16.200	33.142	401.142
	1	6.518	31.287	48.375	10.337	15.987	33.087	421.875
	8	6.352	31.760	50.380	10.500	16.660	33.080	341.000
	15	6.462	32.140	50.220	10.720	16.740	33.400	334.400
	22	6.442	31.900	49.860	10.680	16.720	33.560	339.600
	29	6.184	30.640	49.940	10.200	16.640	33.360	340.200
Tratamento		NS	NS	**	NS	**	*	NS
Tempo		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Tratamento X Tempo		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Valor de F		0.20	0.22	0.95	0.31	0.63	0.69	0.89
Pr>F		1.00	1.00	0.5340	0.9990	0.9028	0.8467	0.5167
CV (%)		14.10	13.75	7.81	14.82	9.60	3.77	49.26

<sup>1</sup> Análise de variância estatística pelo teste de Tukey: NS = não significativo, \* = significativo a  $P \leq 0,05$ , \*\* = significativo a  $P \leq 0,01$ .

<sup>2</sup> Tempo em dias após o tratamento com composto de aminoácidos e vitaminas.

<sup>3</sup> VCM= Volume corpuscular médio, HCM= Hemoglobina corpuscular média, CHCM= Concentração de hemoglobina corpuscular média.

<sup>4</sup> Laboratório de Patologia Clínica da Unesp de Jaboticabal/SP.

Tabela 16 - Valores médios (n=48) e análise de significância estatística<sup>1</sup> na comparação entre os tratamentos para contagem de eritrócitos, percentual de hematócrito, hemoglobina, VCM, HCM, CHCM e plaquetas presentes no sangue de vacas mestiças tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.

Tratamentos	Eritr.Total x10 <sup>6</sup> /μL	Hemat. %	Hg. g/dL	VCM fL	HCM pg	CHCM g/dL	Plaq.Total x10 <sup>3</sup> /μL
Valor referência <sup>3</sup>	5,0 a 10,0	24 a 48	40 a 60	8,0 a 14,0	14,0 a 18,0	26 a 34	200 a 600
Controle	6.46 <sup>A</sup>	30.64 <sup>AB</sup>	10.14 <sup>AB</sup>	47.45 <sup>B</sup>	15.69 <sup>BC</sup>	33.11 <sup>A</sup>	350.17 <sup>A</sup>
Mensal	6.42 <sup>A</sup>	29.59 <sup>B</sup>	9.76 <sup>B</sup>	46.19 <sup>B</sup>	15.21 <sup>C</sup>	32.82 <sup>AB</sup>	330.06 <sup>AB</sup>
Quinzenal	6.12 <sup>A</sup>	30.05 <sup>AB</sup>	9.71 <sup>B</sup>	49.16 <sup>A</sup>	15.88 <sup>AB</sup>	32.32 <sup>B</sup>	269.47 <sup>B</sup>
Semanal	6.39 <sup>A</sup>	31.42 <sup>A</sup>	10.43 <sup>A</sup>	49.52 <sup>A</sup>	16.45 <sup>A</sup>	33.25 <sup>A</sup>	358.76 <sup>A</sup>
Valor de F	1.12	1.30	1.83	6.28	3.95	3.70	2.49
Pr>F	0.3418	0.2778	0.1449	0.0005	0.0096	0.0134	0.0626

<sup>1</sup> Médias seguidas por letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05)

<sup>2</sup> VCM= Volume corpuscular médio, HCM= Hemoglobina corpuscular média, CHCM= Concentração de hemoglobina corpuscular média.

<sup>3</sup> Laboratório de Patologia Clínica da Unesp de Jaboticabal/SP.

Os resultados observados no estudo leucocitário das vacas leiteiras suplementadas estão expressos nas Tabelas 17 a 19. Animais tratados semanalmente apresentaram aumento significativo (P<0,05) na contagem global de leucócitos (Tabela 18). Tais achados foram acompanhados por linfocitose e eosinopenia absoluta e relativa (P<0,05).

A Tabela 19 apresenta o estudo leucocitário ao longo do período experimental. Observou-se aumento não significativo do número de leucócitos no início do período experimental. Porém a contagem diferencial revelou monocitose e neutrofilia (P<0,05) absoluta e relativa na fase mais aguda do processo inflamatório, com 24 horas após a primeira administração.

Tabela 17 - Valores médios (n=8) e análise de variância estatística<sup>1</sup> para contagem global e diferencial absoluta e relativa de leucócitos em vacas lactantes tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.

TRAT.	TEM PO <sup>2</sup>	Leuc.	NEUTRÓFILO		MONÓCITO		LINFÓCITO		BASÓFILO		EOSINÓFILO	
		uL	R	A	R	A	R	A	R	A	R	A
Valor referência <sup>3</sup>	.	04 a 12	15 a 45	0,6 a 5,4	2 a 7	0,08 a 0,8	45 a 75	1,8 a 9,0	0 a 2	0 a 0,08	2 a 20	0,08 a 2,4
CONTROLE	0	10.966	29.0	3.256	0.83	0.093	57.500	6.229	0.166	0.015	12.500	1.372
	1	11.583	30.1	3.310	0.83	0.108	56.666	6.763	0.166	0.016	12.166	1.384
	8	11.983	25.1	2.971	0.50	0.065	58.333	6.981	0.500	0.053	15.500	1.911
	15	11.957	25.0	2.987	0.71	0.093	60.714	7.348	0.428	0.056	13.142	1.471
	22	11.600	23.4	2.732	0.85	0.096	63.142	7.405	0.142	0.019	12.428	1.346
	29	11.716	26.1	3.059	0.16	0.016	61.833	7.296	0.166	0.019	11.666	1.324
MENSAL	0	15.100	32.3	4.882	1.50	0.231	58.500	8.808	0.833	0.125	6.833	1.051
	1	14.642	31.5	4.678	1.85	0.250	57.714	8.359	0.285	0.034	8.428	1.297
	8	14.814	32.8	4.910	1.00	0.146	60.428	8.898	0.571	0.096	4.857	0.726
	15	14.814	28.7	4.339	0.85	0.120	63.571	9.269	0.142	0.022	6.714	1.062
	22	14.285	29.8	4.253	1.28	0.188	63.000	9.004	0.285	0.039	5.571	0.798
	29	14.314	25.5	3.717	0.00	0.000	64.714	9.158	0.857	0.127	8.857	1.311
QUISENAL	0	13.042	30.5	4.060	0.85	0.111	59.142	7.527	0.142	0.010	9.285	1.332
	1	13.328	36.1	4.886	1.28	0.177	51.571	6.721	0.428	0.040	10.428	1.491
	8	12.016	23.1	2.776	1.16	0.137	65.833	7.852	0.333	0.031	9.500	1.219
	15	12.566	25.3	3.233	1.33	0.160	65.666	8.166	0.000	0.000	7.666	1.006
	22	12.766	27.5	3.578	0.83	0.103	64.833	8.193	0.166	0.020	6.666	0.869
	29	10.760	29.6	3.110	1.60	0.149	63.800	6.900	0.400	0.036	4.600	0.563
SEMANAL	0	13.414	27.1	3.417	0.85	0.121	60.142	8.198	1.285	0.165	10.285	1.477
	1	15.137	25.8	3.572	0.87	0.132	63.375	9.864	0.000	0.000	11.142	1.568
	8	14.300	22.4	3.229	0.20	0.019	71.000	10.215	0.400	0.049	6.000	0.786
	15	14.180	22.8	3.077	0.80	0.102	67.000	9.723	0.200	0.019	9.200	1.257
	22	14.100	20.4	2.848	0.20	0.019	70.000	9.874	0.200	0.019	9.200	1.338
	29	13.880	22.6	3.021	0.40	0.050	64.400	9.069	0.600	0.068	12.000	1.669
Tratamento		**	**	**	NS	NS	*	**	NS	NS	**	NS
Tempo		NS	*	NS	NS	NS	**	NS	NS	NS	NS	NS
Tratamento X Tempo		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Valor de F		1.61	1.87	2.80	1.20	1.12	1.56	1.74	1.10	1.29	1.39	0.76
Pr>F		0.0496	0.0144	0.0001	0.2525	0.3348	0.0622	0.0273	0.3478	0.1856	0.1261	0.7785
CV (%)		22.77	26.61	31.92	120.65	128.15	15.07	30.10	182.15	192.53	69.84	77.86

<sup>1</sup> Análise de variância estatística pelo teste de Tukey: NS = não significativo, \* = significativo a  $P \leq 0,05$ , \*\* = significativo a  $P \leq 0,01$ .

<sup>2</sup> Tempo em dias após o tratamento com composto de aminoácidos e vitaminas.

<sup>3</sup> Laboratório de Patologia Clínica da Unesp de Jaboticabal/SP.

Tabela 18 - Valores médios (n=48) e análise de significância estatística<sup>1</sup> na comparação entre os tratamentos para contagem global e diferencial relativa e absoluta de leucócitos presentes no sangue de vacas mestiças tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.

Tratamentos	Leuc. Tot. x10 <sup>3</sup> /μL	Neutrófilos		Monócitos		Linfócitos		Eosinófilos	
		R	A	R	A	R	A	R	A
Valor referência <sup>3</sup>	04 a 12	15 a 45	0,6 a 5,4	2 a 7	0,08 a 0,8	45 a 75	1,8 a 9,0	2 a 20	0,08 a 2,4
Controle	11.54 <sup>B</sup>	25.25 <sup>BC</sup>	2.93 <sup>C</sup>	0.75 <sup>AB</sup>	0.093 <sup>AB</sup>	59.73 <sup>B</sup>	6.92 <sup>B</sup>	13.66 <sup>A</sup>	1.55 <sup>A</sup>
Mensal	14.59 <sup>A</sup>	30.31 <sup>A</sup>	4.46 <sup>A</sup>	1.00 <sup>A</sup>	0.144 <sup>A</sup>	61.09 <sup>B</sup>	8.85 <sup>A</sup>	7.06 <sup>B</sup>	1.05 <sup>B</sup>
Quinzenal	12.33 <sup>B</sup>	28.35 <sup>AB</sup>	3.53 <sup>B</sup>	1.17 <sup>A</sup>	0.138 <sup>A</sup>	61.75 <sup>B</sup>	7.52 <sup>AB</sup>	8.42 <sup>B</sup>	1.11 <sup>B</sup>
Semanal	14.47 <sup>A</sup>	23.09 <sup>C</sup>	3.15 <sup>BC</sup>	0.53 <sup>B</sup>	0.071 <sup>B</sup>	66.48 <sup>A</sup>	9.81 <sup>A</sup>	9.42 <sup>B</sup>	1.37 <sup>AB</sup>
Valor de F	10.98	7.42	14.91	2.51	2.14	3.67	10.73	7.48	2,18
Pr>F	<.0001	<.0001	<.0001	0.0610	0.0984	0.0139	<.0001	<.0001	0.0935

<sup>1</sup> Médias seguidas por letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05)

<sup>2</sup> R= valores relativos ; A= valores absolutos.

<sup>3</sup> Laboratório de Patologia Clínica da Unesp de Jaboticabal/SP.

Tabela 19 - Valores médios (n=32) e análise de significância estatística<sup>1</sup> na comparação entre os dias analisados para contagem global e diferencial relativa e absoluta de leucócitos presentes no sangue de vacas mestiças tratadas com composto de aminoácidos e vitaminas.

Dia analisado	Leuc. Tot. x10 <sup>3</sup> /μL	Neutrófilos		Monócitos		Linfócitos		Eosinófilos	
		R	A	R	A	R	A	R	A
Valor referência <sup>3</sup>	04 a 12	15 a 45	0,6 a 5,4	2 a 7	0,08 a 0,8	45 a 75	1,8 a 9,0	2 a 20	0,08 a 2,4
0	13.57 <sup>A</sup>	28.31 <sup>AB</sup>	3.74 <sup>AB</sup>	0.14 <sup>A</sup>	1.06 <sup>AB</sup>	59.56 <sup>BC</sup>	8.16 <sup>A</sup>	10.43 <sup>A</sup>	1.44 <sup>A</sup>
1	13.46 <sup>A</sup>	30.34 <sup>A</sup>	3.99 <sup>A</sup>	0.15 <sup>A</sup>	1.15 <sup>A</sup>	56.65 <sup>C</sup>	7.70 <sup>A</sup>	11.50 <sup>A</sup>	1.56 <sup>A</sup>
8	13.17 <sup>A</sup>	25.82 <sup>B</sup>	3.44 <sup>AB</sup>	0.08 <sup>AB</sup>	0.69 <sup>AB</sup>	64.20 <sup>AB</sup>	8.45 <sup>A</sup>	8.76 <sup>A</sup>	1.12 <sup>A</sup>
15	13.37 <sup>A</sup>	25.46 <sup>B</sup>	3.40 <sup>B</sup>	0.11 <sup>AB</sup>	0.92 <sup>AB</sup>	64.23 <sup>AB</sup>	8.62 <sup>A</sup>	9.18 <sup>A</sup>	1.19 <sup>A</sup>
22	13.18 <sup>A</sup>	25.29 <sup>B</sup>	3.35 <sup>B</sup>	0.10 <sup>AB</sup>	0.79 <sup>AB</sup>	65.24 <sup>A</sup>	8.61 <sup>A</sup>	8.46 <sup>A</sup>	1.08 <sup>A</sup>
29	12.64 <sup>A</sup>	25.72 <sup>B</sup>	3.19 <sup>B</sup>	0.05 <sup>B</sup>	0.57 <sup>B</sup>	63.29 <sup>AB</sup>	8.09 <sup>A</sup>	9.50 <sup>A</sup>	1.24 <sup>A</sup>
V F	0.31	2.34	1.88	1.17	1.69	3.86	0.60	0.79	0.95
PR>F	0.9091	0.0445	0.1015	0.3268	0.1420	0.0026	0.7021	0.5576	0.4502

<sup>1</sup> Médias seguidas por letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05)

<sup>2</sup> R= valores relativos ; A= valores absolutos.

<sup>3</sup> Laboratório de Patologia Clínica da Unesp de Jaboticabal/SP.

#### 4. DISCUSSÃO

A administração parenteral de aminoácidos e vitaminas resultou em aumento da produção de leite em vacas quando submetidas ao tratamento semanal. Associado a este aumento na produção verificou-se aumento significativo na quantidade de proteínas totais, lactose e extrato seco desengordurado presentes no leite de vacas tratadas semanalmente.

Vacas tratadas semanalmente apresentaram aumento no percentual de caseína e nos valores de crioscopia do leite. A contagem de células somáticas foi altamente influenciada pela administração do suplemento, sendo observado efeito dose-resposta para esta análise e quanto mais frequente a administração do moderador orgânico menor foi a contagem de células somáticas no leite.

PIRESTANI e EGHBALEED [8] descreveram o efeito da suplementação mineral e vitamínica sobre a qualidade do leite, observando aumento de produção e na quantidade de gordura, porém não foi constatado alterações na quantidade de proteína e na contagem de células somáticas. Por outro lado, MEIJER et al. [9] discutiram em seus estudos o possível efeito limitante da suplementação com os aminoácidos essenciais metionina e lisina, e os aminoácidos não essenciais prolina, ácido glutâmico e glutamina na produção de leite em vacas e segundo estes autores a glutamina e o ácido glutâmico são os aminoácidos encontrados em maior quantidade nas proteínas do leite.

Inclusive a resposta de vacas tratadas em relação à presença de proteína no leite parece não ter sofrido a influência negativa do estresse de contenção e aplicação do suplemento, pois de acordo com GAIATO et al. [10], o aumento nos níveis circulantes de cortisol resultantes da administração de ACTH em vacas durante a lactação não alterou a produção, o teor de proteína e gordura do leite, assim como, as contagens de células somáticas não foram influenciadas pelo cortisol. Diminuição na quantidade de proteína, lactose, gordura e ESD foram observados em leites de vacas com mastite [11].

No entanto, vacas tratadas semanalmente apresentaram aumento na frequência respiratória. Estes achados sugerem a hipótese de que os animais sofreram estresse de contenção e aplicação do produto. Assim como, foi observado



aumento da temperatura superficial no local da administração em animais tratados semanal e quinzenalmente, provavelmente resultante do processo inflamatório no local da aplicação do moderador orgânico. O rubor e o aumento da temperatura local que caracterizam as regiões de inflamação se devem a maior quantidade de sangue fluindo, resultante de vasodilatação local [12].

Apesar dos valores observados no estudo bioquímico estarem dentro dos valores de referência para a espécie, o tratamento com aminoácidos e vitaminas resultou em aumento de ALT, AST, LDH e GGT, sendo este efeito dose-dependente. De acordo com SUJA et al. [13] e SHIH et al. [14], os testes bioquímicos de atividade enzimática de ALT, AST, LDH, Fosfatase Alcalina e GGT revelam a ocorrência de lesões de citotoxicidade dos hepatócitos e alterações colestáticas. O aumento sérico da atividade enzimática da ALT e AST resultam de alterações reversíveis ou irreversíveis na permeabilidade da membrana celular do hepatócito, na indução enzimática microsomal ou lesão estrutural de isquemia hepatobiliar, necrose ou colestase [15].

A avaliação da funcionalidade hepática é determinada através de substâncias sintetizadas no fígado ou pertencentes a processos metabólicos, tais como: albumina, ureia, glicose, colesterol, triglicerídeos, entre outros [13], [14]. Animais suplementados semanalmente apresentaram aumento nos níveis séricos de albumina e diminuição de ureia circulante, porém os valores observados se encontram dentro da normalidade para vacas em lactação. Não se observou variações nos níveis circulantes de triglicerídeos, colesterol, proteínas totais e creatinina após o tratamento. FERREIRA et al. [16] verificaram aumento nos valores séricos de proteína total, ureia e creatinina em vacas durante o estresse calórico, associado a níveis mais elevados de cortisol no sangue.

O fígado é essencial para a homeostase de proteínas, sendo local primário para síntese de grande parte das proteínas plasmáticas. A albumina é a principal proteína hepática de exportação e representa cerca de 50 a 60% das proteínas plasmáticas e cerca de 75% da pressão oncótica [14]. Neste estudo, apesar dos níveis circulantes de albumina estarem dentro da faixa de normalidade para vacas em lactação, verificou-se aumento sérico desta proteína em animais tratados semanalmente. Casos de hiperalbuminemia são raramente observados, exceto na

presença de desidratação ou choque, situações em que ocorre alterações significativas da quantidade e distribuição de líquidos nos diferentes compartimentos orgânicos, resultando em hemoconcentração [17]. No entanto, observou-se aumento no volume corpuscular médio das hemácias que corroborariam a hipótese de alterações no equilíbrio líquido eletrolítico com possível aumento do influxo de líquidos para o compartimento intracelular. Por outro lado, de acordo com MUTLU et al. [18], quadros de hiperalbuminemia foram observados em seres humanos submetidos a dietas muito ricas em aminoácidos.

Por outro lado, 90 % da amônia liberada no fígado é convertida em ureia que se torna o principal produto metabólico na desintoxicação hepática do catabolismo proteico [19]. O estudo dos níveis sanguíneos de ureia e creatinina demonstraram valores normais na comparação entre animais tratados e controles em todos os períodos analisados, sugerindo a hipótese de que o tratamento com este moderador orgânico apresenta boa segurança clínica, não comprometendo significativamente o metabolismo hepático proteico e o processo de excreção destas substâncias pelos rins.

Apesar dos parâmetros hematológicos estarem dentro dos valores de referência para a espécie, esta análise revelou aumento no volume corpuscular médio das hemácias de vacas tratadas semanalmente, associado a um pequeno aumento nos valores percentuais de hematócrito e na contagem global de eritrócitos. Na literatura inúmeros autores discutem o efeito do cortisol endógeno sobre a resposta hematológica. FERREIRA et al. [16] observaram aumento no número de eritrócitos, na concentração de hemoglobina, nos valores percentuais de hematócrito e na quantidade de proteína total, associado aos elevados níveis circulantes de cortisol durante o estresse calórico em bovinos. Por outro lado, CAMPOS et al. [20] constataram aumento dos níveis circulantes de cortisol em vacas no início da lactação, tendo o pico em torno da segunda semana. De acordo com HERRTAGE [21] e FELDMAN [22], canídeos com hiperadrenocorticismo podem apresentar moderada policitemia, resultantes de desequilíbrio líquido-eletrolítico e da atividade deste glicocorticoide sobre a medula óssea.

Animais tratados apresentaram leucocitose no início do estudo com marcada neutrofilia e monocitose. Com a evolução do processo inflamatório local e a

administração consecutiva do suplemento, as vacas tratadas semanalmente apresentaram quadros de leucocitose mais acentuados quando comparado aos demais grupos, e o estudo diferencial de leucócitos revelou linfocitose e eosinopenia relativa e absoluta. Tais achados corroboram as observações descritas por PRADO et al. [23], que verificaram quadros de leucocitose semelhantes em ratos Wistar após a administração parenteral de aminoácidos.

## 5. CONCLUSÕES

As seguintes inferências podem ser extraídas dos resultados obtidos, através de modelo experimental utilizado, para o estudo de eficácia sobre a galactopose e segurança clínica da suplementação contendo aminoácidos e vitaminas em vacas leiteiras, na dose de 10 mL/animal, conforme protocolo proposto em bula pelo fabricante:

- Apesar de se observar aumento na produção leiteira de animais tratados semanalmente e mensalmente quando comparados ao grupo controle, não se observou variações significativas na quantidade de leite produzida.
- Clinicamente, a administração parenteral do suplemento resultou em aumento da frequência respiratória e da temperatura no local de administração, principalmente, após 24 horas da aplicação inicial, sendo este efeito transitório.
- Em vacas tratadas semanalmente, notou-se aumento significativo de proteínas, lactose e ESD, associado à diminuição da gordura no leite quando comparadas ao leite de animais controle. Não se observou alterações significativas na quantidade de sólidos totais (EST) presentes no leite das vacas submetidas aos diferentes tratamentos.

- A quantidade de caseína presente no leite e o percentual de caseína em relação às proteínas totais foram fortemente influenciados pela administração do suplemento, ocorrendo aumento significativo em animais tratados semanalmente quando comparados ao grupo controle.
- No estudo da crioscopia, verificou-se aumento no afastamento da temperatura de congelamento da água de 0°C no leite de animais tratados em todos os regimes de tratamento quando comparados ao grupo controle.
- Observou-se diminuição na contagem de células somáticas em vacas tratadas quando comparados ao grupo controle, sendo estes achados mais expressivos em animais submetidos ao tratamento semanal.
- Apesar da atividade sérica de ALT, AST e LDH estarem dentro dos padrões de normalidade para a espécie, observou-se aumento significativo em animais tratados semanalmente quando comparados ao grupo controle.
- Não se observou variações significativas nos níveis circulantes de triglicerídeos, colesterol, proteínas totais e creatinina após a suplementação.
- Vacas tratadas semanalmente apresentaram aumento nos níveis séricos de albumina e diminuição de ureia circulante.
- Vacas tratadas semanalmente apresentaram aumento no volume corpuscular médio das hemáceas, no percentual de hematócrito, nos valores de hemoglobina e na hemoglobina corpuscular média e na concentração de hemoglobina corpuscular.

- Animais tratados com composto de aminoácidos e vitaminas semanalmente apresentaram aumento na contagem global de leucócitos, com marcada linfocitose e eosinopenia.
- Na fase mais aguda do processo inflamatório, com 24 horas após a primeira administração do suplemento, o quadro de leucocitose revelou monocitose e neutrofilia.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- CONEGLIAN, S.M. E FRACARO, M. Alteração da composição do leite através da nutrição. **Pubvet**, V.2, N.19, Art#223, Maio, 2008.
- 2- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington: National Academic Press, 2001. 381p.
- 3- MACKIE, R.I.; WHITE, B.A. Recent advances in rumen microbial ecology and metabolism: Potential impact on nutrient output. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.10, p.2971-95, 1990.
- 4- VALADARES FILHO, S.C. **Digestão pós-ruminal de proteína e exigências de aminoácidos para ruminantes**. In: DIGESTIBILIDADE EM RUMINANTES, 1997, Lavras. Anais... Lavras: Universidade Federal de Lavras, 1997. p.87- 113.
- 5- KLAASSEN, C.D. **Princípios de toxicologia e tratamento do envenenamento**. In: Brunton, L.L.; Lazo, J.S.; Parker, K.L. As bases farmacológicas da terapêutica. 11<sup>a</sup> Ed., Mc.Grall Hill, Rio de Janeiro, 2006, p.1573-1584.
- 6- ROMA JÚNIOR, L.C.; MONTOYA, J.F.G.; MARTINS, T.T.; CASSOLI, L.D.; MACHADO, P.F. Sazonalidade do teor de proteína e outros componentes do leite e sua relação com programa de pagamento por qualidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.6, p.1411-1418, 2009.
- 7- SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, W.G. 1980. **Statistical Methods**. Iowa State University Press, Iowa, USA, p.75.
- 8- PIRESTANI, A.; EGHBALESAEED, S. The comparison effects of bolus and dietary supplements on production, milk compositions and udder immune system of Holstein dairy cattle. **Journal of Animal Veterinary Advances**, v.10, n.11, 1404-1407, 2011.

- 9- MEIJER, G.A.L.; MEULEN, J.V.D.; VUUREN, A.M.V. Glutamine is a potentially limiting amino acid for milk production in dairy cows: A hypothesis. **Metabolism**, v.42, n.3, p.358-364, 1993.
- 10- GAIATO, A.P.R.; CANAES, T.S.; DELGADO, T.F.G.; OLIVEIRA, I.V.B.S.; NEGRÃO, J.A. Contagem de células somáticas e produção de leiteira em cabras Saanen estressadas via aplicação de ACTH. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.41, n.5, p.1236-1242, 2012.
- 11- HUSSIAN, R.; JAVED, M.T.; KHAN, A. Changes in some biochemical parameters and somatic cell counts in the milk of buffalo and cattle suffering from mastitis. **Pakistan Veterinary Journal**, 2012 (In press).
- 12- FILHO, G.B. **Bogliolo–Patologia**, 8a Ed. Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, 2011, 1524p.
- 13- SUJA, S.R.; LATHA, P.G.; PUSHPANGADAN, P.; RAJASEKHARAN, S. Evaluation of hepatoprotective effects of *Helminthostachys zeylanica* (L.) Hook against carbon tetrachloride-induced liver damage in Wistar rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.92, p.61-66, 2004.
- 14-SHIH, C.C.; WU, Y.W.; LIN, W.C. Aqueous extract of *Anoectochilus formosanus* attenuate hepatic fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats. **Phytomedicine**, v.12, p. 453-460, 2005.
- 15- WILLS, P.J.; ASHA, V.V. Protective effect of *Lygodium flexuosum* (L.) Sw. extract against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.108, p. 320-326, 2006.
- 16- FERREIRA, F.; CAMPOS, W.E.; CARVALHO, A.U.; PIRES, M.F.A.; MARTINEZ, M.L.; SILVA, M.V.G.B.; VERNEQUE, R.S.; SILVA, P.F. Parâmetros clínicos, hematológicos, bioquímicos e hormonais de bovinos submetidos ao estresse calórico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.4, p.769-776, 2009.
- 17- BELO, M.A.A.; SOARES, V.E.; SOUZA, L.M.; SOBREIRA, M.F.R.; CASSOL, D.M.S.; TOMA, S.B. Hepatoprotective treatment attenuates oxidative damages induced by carbon tetrachloride in rats. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 64, p.155-165, 2012.

- 18- MUTLU, E.A.; KESHAVARZIAN, A.; MUTLU, G.M. Hyperalbuminemia and elevated transaminases associated with high-protein diet. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, v.41, n.6, p.759-766, 2006.
- 19-RIVERA-HUIZAR, S.; RINCÓN-SANCHEZ, A.R.; COVARRUBIAS-PINEDO, A.; ISLAS-CARBAJAL, M.C.; GABRIEL-ORTIZ, G.; PEDRAZA-CHAVERRI, J.; ÀLVAREZ-RODRIGUEZ, A.; MEZA-GARCIA, E.; ARMENDÁRIZ-BORUNDA, J. Renal dysfunction as a consequence of acute liver damage by bile ligation in cirrhotic rats. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v.58, p.185-195, 2006.
- 20-CAMPOS, R.; LACERDA, L.A.; TERRA, S.R.; GONZALES, F.H.D. Parâmetros hematológicos e níveis de cortisol plasmático em vacas leiteiras de alta produção no Sul do Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n.5, p.354-361, 2008.
- 21-HERRTAGE, M.E. **Doenças do sistema endócrino**. In: Tratado de Medicina de pequenos animais. 1ª Ed., São Paulo, Roca, 2001. Cap. 39, p.522-568.
- 22- FELDMAN, E.C. **Hyperadrenocorticism**. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C.. Tratado de Medicina Interna Veterinária. 5a Ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2004. Cap.154, p.1539-1568.
- 23- PRADO, E. J. R. ; BELO, M. A. A. ; MORAES, A. C. ; OLIN, M. ; CANHE, V. L. M. S. B. ; SOUZA, L. M. . Estudo leucocitário de ratos Wistar tratados com moderador orgânico (Aminopool ), administrado via intramuscular. In: **37 CONBRAVET - Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro/RJ, 2010.