

**Fatores maternos de vacas leiteiras de baixa produção que podem influenciar nas concentrações de paraoxonase-1 do neonato****Maternal factors of low production dairy cows that can influence the neonate paraoxonase-1 concentrations**

DOI:10.34117/bjdv6n7-785

Recebimento dos originais: 03/06/2020

Aceitação para publicação: 29/07/2020

**Maila Palmeira**

Mestranda em Zootecnia- Universidade Federal do Paraná

Instituição: Universidade Federal do Paraná

Endereço: Rua dos funcionários 1540, Cabral, Curitiba-PR

E-mail: mailapalmeira7@gmail.com

**Kebb Klobukoski Borstnez**

Médica Veterinária, Mestranda pelo Instituto Federal Catarinense

Instituição: Instituto Federal Catarinense, Campus Araquari.

Endereço: BR 280, km 27 - Bairro Colégio Agrícola, Araquari - SC, Brasil

E-mail: kebb.kb@gmail.com

**Fabiana Moreira**

Doutora em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas

Instituição: Instituto Federal Catarinense, Campus Araquari.

Endereço: BR 280, km 27 - Bairro Colégio Agrícola, Araquari - SC, Brasil

E-mail: fabiana.moreira@ifc.edu.br

**Ivan Bianchi**

Doutor em Biotecnologia Agrícola pela Universidade Federal de Pelotas

Instituição: Instituto Federal Catarinense, Campus Araquari.

Endereço: BR 280, km 27 - Bairro Colégio Agrícola, Araquari - SC, Brasil

E-mail: ivan.bianchi@ifc.edu.br

**Juahil Martins de Oliveira Júnior**

Doutor em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Paraná

Instituição: Instituto Federal Catarinense, Campus Araquari.

Endereço: BR 280, km 27 - Bairro Colégio Agrícola, Araquari - SC, Brasil

E-mail: juahil.oliveira@ifc.edu.br

**Vanessa Peripolli**

Pós-doutorado em Ciências Animais pela Universidade de Brasília

Instituição: Instituto Federal Catarinense, Campus Araquari

Endereço: BR 280, Km 27 - Bairro Colégio Agrícola, Araquari - SC, Brasil

E-mail: vanessa.peripolli@ifc.edu.br

**Augusto Schneider**

Doutor em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas  
Intituição: Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Nutrição  
Endereço: Rua Gomes Carneiro, 1 Sala 228, Pelotas - RS, Brasil  
E-mail: augusto.schneider@ufpel.edu.br

**Elizabeth Schwegler**

Doutora em Ciências Veterinária pela Universidade Federal de Pelotas  
Instituição: Instituto Federal Catarinense, *Campus Araquari*.  
Endereço: BR 280, km 27 - Bairro Colégio Agrícola, Araquari - SC, Brasil  
E-mail: bethveterinaria@gmail.com

**RESUMO**

Vacas periparturientes apresentam altas demandas metabólicas, taxas de inflamação e consequentemente risco de desenvolver patologias. O cálcio é um dos minerais com demanda extenuante a esses animais, sendo baixas concentrações cálcicas responsáveis pelo acometimento do sistema imune de vacas e seus respectivos bezerros. A enzima paraoxonase-1 também está relacionada com saúde da vaca e de bezerros, ligada a estresse oxidativo e inflamação. Tendo em vista a caracterização das propriedades leiteiras brasileiras, sendo em sua maioria de rebanhos de baixa produção, o objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos maternos em vacas leiteiras de baixa produção que influenciam na imunidade do neonato. O estudo foi realizado com 16 vacas e sua respectiva prole, que tiveram sangue coletado 24 horas após o parto e a colostragem respectivamente. Foram feitas análises séricas de cálcio, magnésio, paraoxonase-1 na vaca e no bezerro e proteínas plasmáticas totais no bezerro. As vacas foram categorizadas por ordem de parto (primípara e múltípara), calcemia (hipocalcêmica e normocalcêmica), raça (holandesa e mestiça) e ainda pelo sexo do bezerro. A concentração mineral e raça não influenciaram nas concentrações de paraoxonase-1 ( $P > 0,05$ ) e as proteínas plasmáticas totais não foram afetadas por nenhuma categorização ( $P > 0,05$ ). Bezerros nascidos de vacas múltíparas tiveram menores concentrações de paraoxonase-1, indicando maior estresse oxidativo e inflamação, assim como bezerros machos, que apresentaram redução significativa nas concentrações de paraoxonase-1 quando comparados a fêmeas ( $P < 0,05$ ).

**Palavras-chave:** Bezerro, Cálcio, Imunidade, Pós-parto.

**ABSTRACT**

Periparturient cows have high metabolic demands, inflammation rates and, consequently, risk of developing disease. Calcium is one of the minerals with high demands for these animals, with low calcium concentrations responsible for impairment of the immune system of cows and their calves. The enzyme paraoxonase-1 is also related to cow and calf health, linked to oxidative stress and inflammation. Considering the characteristics of Brazilian dairy farms, mostly composed of low production herds, the aim of this study was to evaluate the maternal factors of low production dairy cows that influence the neonate immunity. The study was conducted with 16 dairy cows and their respective calves, which had blood collected 24 hours after calving and colostrum supply, respectively. Serum analyzes of calcium, magnesium and paraoxonase was conducted in the cow and calf and total plasma proteins conducted only in the calf. The cows were categorized by calving order (primiparous and multiparous), calcium concentrations (hypocalcemic and normocalcemic), breed (Holstein and crossbreed) and also by sex of the calf. Mineral concentration and breed were not relevant for paraoxonase-1 concentrations ( $P > 0.05$ ) and total plasma proteins were not affected by any categorization ( $P > 0.05$ ). Calves born from multiparous cows had lower concentrations of paraoxonase-1, indicating greater oxidative stress and inflammation, as well as male calves, which showed a significant reduction in paraoxonase-1 concentrations when compared to females ( $P < 0.05$ ).

**Keywords:** Calf, Calcium, Immunity, Postpartum.

## 1 INTRODUÇÃO

Vacas leiteiras são desafiadas metabolicamente constantemente e possuem habilidade de mobilizar nutrientes essenciais para o a produção leiteira. No período de pós-parto, as exigências minerais são extenuantes, destacando-se as concentrações séricas de cálcio como mais afetadas, já que a síntese e secreção do colostro demanda concentrações de cálcio de 7 a 10 vezes maiores que as presentes no sangue (HORST et al., 2005) e a redução das concentrações séricas desse mineral está associada a patologias (MARTINEZ et al., 2012).

O papel do cálcio e do magnésio se estende a implicações endócrinas e de função imune e déficits desses sistemas em vacas periparturientes são um dos fatores que contribuem para ocorrência de doenças nesses animais (WILKENS et al., 2020). Além disso, a concentração sérica de cálcio da vaca influencia na saúde do bezerro, sendo bezerros nascidos de vacas hipocalcêmicas mais predispostos a desenvolver diarreia quando comparados a bezerros nascidos de vacas normocalcêmicas (WILHELM et al., 2017).

Outro marcador que vem sendo estudado, relacionado a enfermidades, processos imunes e inflamatórios é a paraoxonase-1 (PON-1) (KOVACIC et al., 2019). Durante uma resposta inflamatória, espécies reativas a oxigênio podem ultrapassar a capacidade de sistemas antioxidantes e comprometer a função imune de vacas (TURK et al., 2012). A PON-1 é uma enzima antioxidante e anti-inflamatória (MACKNESS et al. 1996), encontrando-se reduzida em resposta a condições inflamatórias, como mastite (KOVACIC et al., 2019) e alto desafio metabólico, também relacionada a menor produção leiteira, quando em baixas concentrações (BIONAZ et al., 2007). Além disso a PON-1 pode ser utilizada como diagnóstico de inflamação em bezerros neonatos (GIORDANO et al., 2013), juntamente com as proteínas plasmáticas totais (PPT) para análise da transferência de imunidade (SILPER et al., 2012).

Todas as alterações enfatizadas nos estudos são de rebanhos de alta produção, com animais expostos a altos desafios metabólicos. A realidade de muitas propriedades brasileiras, contudo, é contrária a produções altamente tecnificadas. Embora o Brasil seja destaque na produção mundial de leite, a produtividade do rebanho é pequena, com produção de 1.381 litros por vaca ordenhada ao ano (ANUALPEC, 2016). Sendo assim, o objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos maternos em vacas leiteiras de baixa produção que influenciam na imunidade do neonato.

**2 MATERIAIS E MÉTODOS**

O estudo foi realizado na fazenda escola do Instituto Federal Catarinense – *Campus Araquari* (48°43'20") na unidade de ensino e aprendizagem gado leiteiro e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) de protocolo número 182/2016.

O rebanho leiteiro possuía 35 vacas, em média 15 em lactação. Os partos da propriedade foram monitorados durante um período de um ano. Nesse período 16 partos ocorreram, sendo 12 vacas da raça Holandês e 4 mestiças (50% Jersey x 50% Holandês), e seus respectivos bezerros recém-nascidos (9 machos e 7 fêmeas). Cinco das vacas eram primíparas e 11 multíparas. Todos os animais eram mantidos em sistema semi-extensivo, recebendo a mesma dieta a base de braquiária como pastagem pré-parto e 3 kg de ração específica para a categoria (12% de proteína bruta, Maxxi Milk Pré-Parto®). O rebanho produzia em média 14 kg/dia/vaca de leite. As vacas eram monitoradas 24 horas por dia, com horário de parto anotado. O manejo de ordenha pós-parto e separação do bezerro era realizado logo após a visualização do parto, porém caso algum animal parisse após as 19:00 horas os manejos eram realizados as 8:00 horas da manhã.

Vinte e quatro horas pós-parto foram realizadas as coletas de sangue para amostras sorológicas das vacas. Nos bezerros as amostras foram coletadas 24 horas após a colostragem para obtenção de soro e plasma. O sangue foi coletado por punção da veia jugular com agulha 1,2x40 mm, acoplado em seringa e adicionado em tubo de coleta de 10 ml, com e sem o uso de anticoagulante. As amostras foram centrifugadas por 15 minutos a 1800 g para obtenção do soro e plasma em seguida depositado em tubos tipo eppendorf®. Os soros foram armazenados a -20° C para posteriores análises bioquímicas. Foram mensuradas as concentrações séricas dos minerais cálcio e magnésio por métodos colorimétricos usando kits comerciais (Labtest Diagnostica, Lagoa Santa, SP, Brasil) em analisador bioquímico semi-automático (TEKNA, T-3000). A atividade de PON-1 sérica foi quantificada em todos os animais, através da taxa de formação de fenol, caracterizado pelo modo de reação cinética (BROWNE et al., 2007). No plasma dos bezerros foi feita a mensuração do PPT dos bezerros por refratometria óptica, através do refratômetro portátil (RTP-12, InstruTerm).

Para estimar os parâmetros que influenciaram nas concentrações de paraoxonase-1 foram realizadas análises estatísticas utilizando o programa SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Foram realizadas análises de variância utilizando o método de Tukey para comparação entre médias. No modelo estatístico os animais foram categorizados da seguinte forma: Vacas em Normo e hipocalcemicas (subclínica, abaixo de 8mg/dl de Ca sérico) (POTTER et al., 2010), Primíparas ou multíparas, Holandês ou mestiça. Os bezerros foram categorizados a partir do sexo, machos ou fêmeas. Os valores de  $P < 0,05$  foram considerados significantes.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados estão apresentados na forma de média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). O horário médio de parição foram as 6:43 horas, e cinco animais pariram durante a madrugada, sendo ordenhados na ordenha seguinte (8:00 horas). Oito vacas foram consideradas hipocalcêmicas, sendo apenas uma primípara. Os animais não foram categorizados pelas concentrações de magnésio, pois nenhuma vaca apresentou baixa concentração do mineral. O sexo do bezerro influenciou na atividade de paraoxonase-1 ( $P < 0,05$ ), sendo as fêmeas com maior atividade (15,24 U/mL) quando comparadas aos machos (4,09 U/mL). Os demais dados mensurados de acordo com a categorização estão demonstrados na tabela 1.

**Tabela 1.** Marcadores bioquímicos da vaca e do bezerro 24 h após o parto/colostragem categorizados pela calcemia, raça e categoria da mãe:

Variável	Calcemia		Pr>F
	Hipocalcêmicas	Normocalcêmica	
Ca Vaca (mg/dl)	7,47 $\pm$ 0,22 <sup>a</sup>	8,57 $\pm$ 0,25 <sup>b</sup>	0,04
Ca Bezerro (mg/dl)	9,69 $\pm$ 0,36	9,57 $\pm$ 0,36	0,53
Mg Vaca (mg/dl)	2,37 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	2,86 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>	0,04
Mg Bezerro (mg/dl)	2,70 $\pm$ 0,18	2,81 $\pm$ 0,23	0,75
PON1 Vaca (U/mL)	56,87 $\pm$ 10,74	67,01 $\pm$ 2,98	0,57
PON1 Bezerro (U/mL)	12,51 $\pm$ 3,83	8,69 $\pm$ 4,13	0,20
PPT Bezerro g/dl	5,97 $\pm$ 0,13	5,98 $\pm$ 0,12	0,85

  

	Raça		Pr>F
	Holandês	Mestiço	
Ca Vaca (mg/dl)	8,35 $\pm$ 0,25	7,57 $\pm$ 0,36	0,50
Ca Bezerro (mg/dl)	9,52 $\pm$ 0,34	9,86 $\pm$ 0,29	0,80
Mg Vaca (mg/dl)	2,62 $\pm$ 0,12	2,74 $\pm$ 0,25	0,35
Mg Bezerro (mg/dl)	3,05 $\pm$ 0,19	2,44 $\pm$ 0,15	0,16
PON1 Vaca (U/mL)	63,12 $\pm$ 6,06	62,19 $\pm$ 7,77	0,91
PON1 Bezerro (U/mL)	9,44 $\pm$ 3,16	12,39 $\pm$ 6,23	0,37
PPT Bezerro g/dl	5,96 $\pm$ 0,10	6,00 $\pm$ 0,18	0,71

  

	Categoria		Pr>F
	Primípara	Múltipara	
Ca Vaca (mg/dl)	8,10 $\pm$ 0,16	8,12 $\pm$ 0,30	0,61
Ca Bezerro (mg/dl)	10,17 $\pm$ 0,19	9,38 $\pm$ 0,33	0,25
Mg Vaca (mg/dl)	2,90 $\pm$ 0,24	2,56 $\pm$ 0,11	0,96
Mg Bezerro (mg/dl)	2,52 $\pm$ 0,25	2,98 $\pm$ 0,16	0,80
PON1 Vaca (U/mL)	69,09 $\pm$ 4,06	60,23 $\pm$ 6,43	0,70
PON1 Bezerro (U/mL)	18,60 $\pm$ 7,49 <sup>a</sup>	6,62 $\pm$ 1,62 <sup>b</sup>	0,05
PPT Bezerro g/dl	5,92 $\pm$ 0,18	6,00 $\pm$ 0,09	0,70

A hipocalcemia subclínica encontrada, pode ser explicada devido à maior demanda de cálcio nesse período, advinda da produção leiteira. Essa patologia é a desordem de macrominerais mais importante na vaca leiteira (OETZEL, 2011; GOFF, 2014; MARTINEZ et al., 2014). Os valores de cálcio encontrados não afetaram as concentrações de PON-1 ou das PPT do bezerro, podendo ser explicado pela baixa produção do rebanho, o que pode ocasionar menores desafios metabólicos. Outro

estudo que demonstrou relação entre hipocalcemia e redução nas concentrações de PON-1 no pós parto, era em vacas de alta produção, ocasionando maior suscetibilidade a doenças nesse período (FEIJÓ et al., 2017). Ainda, estudos recentes observaram relação entre cetose e a atividade da PON-1, encontrando-se reduzida em animais com altos níveis de corpos cetônicos (CAO et al., 2017), influenciando na eficácia do sistema imune desses animais, sendo observado maiores concentrações de corpos cetônicos do pré-parto até a segunda semana de lactação (FREITAS et al., 2020).

A hipocalcemia teve relação com as menores concentrações de magnésio na vaca, já que o magnésio tem papel importante na manutenção do equilíbrio do cálcio durante o período do parto, de modo que o aumento da ingestão de magnésio ajuda a prevenir a hipocalcemia (MCELVEEN et al., 1986). Vacas com valores reduzidos de magnésio apresentam redução na secreção e sensibilidade de paratormônio, reduzindo a síntese de 1-25-dihidroxicolecalciferol, afetando assim a absorção de cálcio (LITLEDIKE et al., 1983; RUDE, 1998).

No bezerro, o indicador de imunidade mais difundido para a eficiência da colostragem é a mensuração das proteínas plasmáticas totais (PPT) (MACFARLANE et al., 2014, VILLARROEL et al., 2014). Tendo em vista as características placentárias dos bovinos, epitélio-corial, os anticorpos dos bezerros são advindos unicamente do colostro, já que não há circulação de imunoglobulinas transplacentária (SILPER et al., 2012). O valor dentro dos limites fisiológicos das PPT no presente estudo, foi possível devido aos cuidados no manejo dos bezerros, sendo oferecido o colostro logo após o nascimento, tendo em vista que a capacidade de absorção intestinal de anticorpos decresce após as primeiras horas de vida (OETZEL, 2015), além disso, as características da propriedade, possuindo um rebanho de baixa produção, influenciou para um menor desafio imunológico.

A paraoxonase-1 teve maiores atividades nos bezerros oriundos das vacas primíparas, indicando melhor eficiência do sistema imune, já que a maior atividade dessa enzima aumenta a resistência de macrófagos a estímulos pró-inflamatórios e a apoptose, possuindo impacto em suas características funcionais (AHARONI et al., 2013). A PON-1 possui efeito antioxidante baseado na hidrólise de hidroperóxidos lipídicos gerados em lipoproteínas de baixa densidade durante eventos de estresse (INGVARTSEN et al., 2003), extensamente estudada na medicina humana, especialmente em relação a doenças caracterizadas com elevado estresse oxidativo, como doenças coronárias e dano hepático (MACKNESS & MACKNESS, 2011). Essa enzima pode ser relacionada com parâmetros lipídicos no pós-parto recente de vacas, sendo diminuída nesse período (SHAGHAYEGH et al., 2010). Além disso a paraoxonase é reduzida mediante um estímulo inflamatório e por isso pode indicar contaminação bacteriana (CAMPOS et al., 2017). O desafio de vacas com LPS leva a uma diminuição severa da atividade desta enzima em apenas 6 horas após o contato com LPS (CAMPOS et al., 2017). Ainda, essa enzima mostra-se diminuída após o parto (TURK et al., 2016). Essa

diminuição pode ser atribuída as condições inflamatórias do período, que ocasiona a produção de espécies reativas a oxigênio, produzidas por fagócitos e necessárias para ação contra agentes patogênicos (THANNICKAL and FANBURG, 2000). A quantidade elevada de espécies reativas a oxigênio podem exceder a capacidade de sistemas antioxidantes e comprometer a função imune (SORDILLO and AITKEN, 2009), aumentando a incidência de doenças reprodutivas e produtivas na lactação (TURK et al., 2016). Diversos estudos reportaram maiores disfunções imunes em vacas multíparas quando comparadas a primíparas (GILBERT et al., 1993; MEH-RZAD et al., 2002). Vacas multíparas possuem menores atividades de células do sistema imune e por isso, maiores incidências de doenças. Além disso possuem balanço energético negativo mais pronunciado, justificado em partes pela maior produção leiteira desse categoria (MEHRZAD et al., 2002; COFFEY et al., 2004), o que pode influenciar no estresse oxidativo, já que durante períodos de balanço energético negativo há excesso de radicais reativos a oxigênio, que causam redução da atividade da PON-1 (MILLER et al., 1993; KORKMAZ et al., 2013). Contudo, o presente estudo não encontrou diferenças significativas entre as categorias primíparas e multíparas, podendo ser explicado pela baixa produção do rebanho. A redução da PON-1 em bezerros nascidos de vacas multíparas pode ser explicada devido a maior suscetibilidade de bezerros ao estresse oxidativo quando comparados a vacas adultas (INANAMI et al., 1999). A PON-1 pode ser útil no diagnóstico de inflamação em bezerros neonatos (GIORDANO et al., 2013), auxiliando na prevenção de futuras doenças (KELLEY et al., 1994, SILPER et al., 2012).

Considerando que quanto maior o tamanho do feto, mais energia a vaca gasta para mantê-lo e conseqüentemente maior o seu desafio metabólico, os resultados diminuídos acerca da PON-1 em bezerros machos no presente estudo podem indicar maior estresse oxidativo e contaminação bacteriana. Além disso, vacas com bezerros machos possuem maiores índices de distocia e endometrite (OLIVERIA et al., 2007). A atividade da paraoxonase-1 é menor em vacas com metrite no pós-parto recente (SHAGHAYEGH et al., 2010). A atividade de PON-1 é significativamente menor em bezerros doentes e a menor atividade da enzima pode ser atribuída a imaturidade hepática ou a diferenças no metabolismo lipídico.

As diferentes categorias analisadas não tiveram efeito nas concentrações minerais e proteínas plasmáticas totais dos bezerros. A concentração mineral e a raça da vaca não influenciaram nas concentrações de PON-1 do bezerro, porém a ordem de parto e o sexo do bezerro influenciaram. Neste estudo a PON-1 foi mais sensível como marcador de imunidade, sugerindo que mesmo em rebanhos de baixa produção, o desafio metabólico do pós-parto ocasiona estresse oxidativo, impactando na imunidade dos bezerros. Sendo assim, a partir dos nossos achados, concluímos que em rebanho de baixa produção, os bezerros nascidos de multíparas e do sexo masculino tem menor atividade da PON-1, possuindo efeito deletério em sua imunidade.

**REFERÊNCIAS**

AHARONI S., AVIRAM M., FUHRMAN B. Paraoxonase 1 (PON1) reduces macrophage inflammatory responses. **Atherosclerosis**. 228: 353-361, 2013.

ANUALPEC. Anuário da Pecuária Brasileira, 20th edn. Instituto FNP, São Paulo, SP, Brasil, 2016.

BIONAZ, M., TREVISI, E., CALAMARI, L., LIBRANDI, F., FERRARI, A., BERTONI, G. Plasma Paraoxonase, Health, Inflammatory Conditions, and Liver Function in Transition Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**., 90, 1740-1750, 2007.

BROWNE R.W., KOURY S.T., MARION S., WILDING G., MUTI P., TREVISAN M. Accuracy and Biological Variation of Human Serum Paraoxonase 1 Activity and Polymorphism (Q192R) by Kinetic Enzyme Assay. **Clinical chemistry**. 53: 190-200, 2007.

CAMPOS F.T., RINCON J.A.A., ACOSTA D.A.V., SILVEIRA P.A.S., PRADIEÉ J., CORRÊA M.N., GASPERIN B.G., PFEIFER L.F.M., BARROS C.C., PEGORARO L.M.C., SCHNEIDER A. The acute effect of intravenous lipopolysaccharide injection on serum and intrafollicular HDL components and gene expression in granulosa cells of the bovine dominant follicle. **Theriogenology**. 89: 244-249, 2017.

CAO, Y., ZHANG, J., YANG, W., XIA, C., ZHANG, H., WANG, Y., XU, C., Predictive value of plasma parameters in the risk of postpartum ketosis in dairy cows. **Journal of Veterinary Research**. 61, 91-95, 2017.

CERON J.J., TECLES F., TVARIJONAVICIUTE A. Serum paraoxonase 1 (PON1) measurement: an update. **Veterinary Research**. 10:74-80, 2014.

COFFEY, M. P., SIMM, G., OLDHAM, J.D., HILL, W.G., BROTHERSTONE, S. Genotype and diet effects on energy balance in the first three lactations of dairy cows. **Journal of Dairy Science**. 87:4318–4326, 2004.

FEIJÓ, J.O., PEREIRA, R.A., MONTAGNER, P., DEL PINO, F.A.B., SCHIMITT, E., CORRÊA, M.M. Dynamics of acute phase proteins in dairy cows with subclinical hypocalcemia. **Canadian Journal of Animal Science**, 98, 1-8, 2017.

FREITAS, B.B., BREDÁ, J.C.S., PALMEIRA, M., SCHWEGLER, E., MARTINS, C.E.N., LENOCH, R. Cetose subclínica em vacas leiteiras na Região dos Campos Gerais no estado do Paraná. **Brazilian Journal of Development**. 6, 30398-30405, 2020.

GILBERT, R.O., GROHN, Y.T., MILLER, P.M., HOFFMAN, D.J. Effect of parity on periparturient neutrophil function in dairy cows. **Veterinary Immunology Immunopathology**. 36:75–82. 1993.

GIORDANO A., VERONESI M.C., ROSSI G., PEZZIA F., PROBO M., GIORI L., PALTRINIERI, S. Serum paraoxonase-1 activity in neonatal calves: Age related variations and comparison between healthy and sick animals. **The Veterinary Journal**. 197: 499–501, 2013. doi:10.1016/j.tvjl.2013.01.034



GOFF, J. P. Calcium and magnesium disorders. **Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**. 30:359–381, 2014.

GONÇALVES T.M., OLIVEIRA A.I.G., FREITAS R.T.F., PEREIRA I.G. Curvas de Lactação em rebanhos da raça holandesa no estado de minas gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. 31: 1689-1694, 2002.

HORST, R.L., GOFF, J.P., REINHARDT, T.A. Adapting to the transition between gestation and lactation: Differences between rat, human and dairy cow. **Journal Mammary Gland Biology and Neoplasia**. v.10, p.141–156, 2005.

KELLEY K.W., JOHNSON R.W., DANTZER R. Immunology discover physiology **Veterinary Immunology and Immunopathology**. 43: 157–165, 1994.

KORKMAZ, I., AYDIN, H., EREN, Ş.H., GÜVEN, F.M.K., YILDIRIM, B., BEYDILLI, İ., EREN, M. The relationship between oxidative stress, paraoxanase and injury severity in blunt trauma patients. **Journal of Clinical and Analytical Medicine**. 4: 196-9, 2013.

KOVACIC, M., SAMARDZIJA, D., DURICIC, D., VINCE, S., FLEGAR-MESTRIC, Z., PERKOV, S., GRACNER, D., TURK, R. Paraoxonase-1 activity and lipid profile in dairy cows with subclinical and clinical mastitis. **Journal of Applied Animal Research**, 47, 1-4, 2018.

INANAMI, O., SHIGA, A., OKADA, K., SATO, R., MIYAKE, Y., KUWABARA, M. Lipid peroxides and antioxidants in serum of neonatal calves. **American Journal of Veterinary Research**. 60, 452–457, 1999.

INGVARTSEN K.L., DEWHURST R.J., FRIGGENS N.C. On the relationship between lactational performance and health: is it yield or metabolic imbalance that causes production diseases in dairy cattle? A position paper. **Livestock Production Science**. 83: 277–308, 2003.

LIMA, F.S., GRECO, L.F., RISCO, C.A., GALVÃO, K.N., TAYLOR-RODRIGUEZ, D., DRIVER, J.P., THATCHER, W.W., SANTOS, J.E.P. Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. 97:874–887, 2014.

LITTLEDIKE, E.T., GOFF, J. Interactions of calcium, phosphorus, magnesium and vitamin D that influence their status in domestic meat animals. **Journal Animal Science**. 65:1727–1743, 1987.

MACFARLANE J.A., GROVE-WHITE D.H., ROYAL M.D., SMITH R.F. Use of plasma samples to assess passive transfer in calves using refractometry: Comparison with serum and clinical cut-off point. **Veterinary Record**. 174: 303, 2014.

MACKNESS M. & MACKNESS B. Effect of dilution on high-density lipoprotein associated paraoxonase-1 activity. **Clinical Biochemistry**. 44:14-15, 2011.

MARTINEZ, N., SINEDINO, L.D.P., BISINOTTO, R.S.E., RIBEIRO, S., GOMES, G.C., MCELVEEN M., MACKNESS, J.M.I., COLLEY C.M., PEARD T., WARNER S., WALKER, C.H. Distribution of paraoxon hydrolysing activity in the serum of patients after myocardial infarction, **Clinical Chemistry**. 32: 671-673, 1986.

MEHRZAD, J., DUCHATEAU, L., PYO'RA'LA', S., BURVENICH, C. Blood and milk neutrophil chemiluminescence and viability in primiparous and multiparous dairy cows during late pregnancy, around parturition and early lactation. **Journal of Dairy Science**. 85:3266–3276, 2002.

MILLER, J.K., BRZEZINSKA-SLEBODZINSKA, E., MADSEN, F.C. Oxidative stress, antioxidants and animal function. Symposium: antioxidants, immune response and animal function. **Journal of Dairy Science** 76, 2812–2823, 1993.

OETZEL G.R. An update on hypocalcemia on dairy farms. School of Veterinary Medicine, University of Wisconsin-Madison. 80-85, 2015.

OETZEL, G. R. Diseases of dairy animals—Non-infectious diseases: Milk fever. Pages 239–245 in Encyclopedia of Dairy Sciences. 2nd ed. J. W. Fuquay, ed. Academic Press, San Diego, CA, 2011.

OLIVEIRA M.A., REIS R.B., LADEIRA M.M., PEREIRA I.G., FRANCO G.L., SATURNINO H.M., COELHO S.G., ARTUNDUAGA M.A.T., FARIA B.N., SOUZA JÚNIOR J.A. Produção e composição do leite de vacas alimentadas com dietas com diferentes proporções de forragem e teores de lipídeos. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**. 59: 759-766, 2007.

POTTER T. J., GUITIAN J., FISHWICK J., GORDON P. J., SHELDON I. M. Risk factors for clinical endometritis in postpartum dairy cattle. **Theriogenology**. 74: 127–134, 2010.

RUDE, R.K. Magnesium deficiency: A cause of heterogeneous disease in humans. **Journal of Bone Mineral Research**. 13:749–758, 1998.

SHAGHAYEGH A., SAKHA M., AZIMPOUR S., MOUSAKHANI F., FARHOODI M. Prevalence of subclinical hypocalcemia and its effects on milk somatic cell count, 10 days after parturition of cattle in a dairy farm. **Animal Science and Research Journal**. 6: 39-52, 2010.

SILPER, B.F. Avaliação da qualidade do colostro e transferência de imunidade passiva em animais mestiços Holandês Zebu. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**. 64: 281-285, 2012.

TURK R., JURETIC D., GERES D., TURK N., REKIC B., RUDOLF V.S., ROBIC M., SVETINA A. Serum paraoxonase activity in dairy cows during pregnancy. **Research in Veterinary Science**. 79: 15-18, 2005.

VILLARROEL A., MILLER T.B., WARD J.K., JOHNSON E.D., NOYES K.R. Differences in total protein concentration between fresh and frozen serum and plasma samples used to assess failure of passive transfer in dairy calves. **Advances in Dairy Research**. 2: 1-5, 2014.

WILHELM, A.L., MAQUIVAR, M.G., BAS, S., BRICK, T.A., WEISS, W.P., BOTHE, H., VELEZ, J.S., SCHUENEMANN, G.M. Effect of serum calcium status at calving on survival, health, and performance of postpartum Holstein cows and calves under certified organic management. **Journal of Dairy Science**. 100, 3059-3067, 2017.

WILKENS, M.R., NELSON, C.D., HERNANDEZ, L.L., MCART, J.A.A. Symposium review: Transition cow calcium homeostasis—Health effects of hypocalcemia and strategies for prevention. **Journal of Dairy Science**., v.103, p.2909–2927, 2020.