Journal of Veterinary Science and Public Health

Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública

COMPARAÇÃO ENTRE O TESTE DE FITA REAGENTE ATRAVÉS DA URINA E O TESTE DE BETA-HIDROXIBUTIRATO PELO SANGUE PARA DETECÇÃO DE CETOSE EM VACAS LACTANTES

(Comparison between the urine reagent test and the beta-hydroxibutirate test for the blood to detect ketosis in lactation cows).

GERON, Caroline Cella[1]*; MARIA, Flávia Nesi[1]; SAMPAIO, Augusto José Savioli[2]; NAKAZATO, Gerson[3]; NISHIO, Erick Kenji[4]

1. Mestranda em Clínicas Veterinárias - Universidade Estadual de Londrina –
2. Docente do Departamento de Clínicas Veterinárias – Universidade Estadual de Londrina
3. Docente Adjunto do Centro de Ciências Biológicas - Universidade Estadual de Londrina
4. Doutorando em Microbiologia - Universidade Estadual de Londrina

*Autor para correspondência: carol_geron@hotmail.com

Artigo enviado em: 28/12/2017, aceito para publicação em 09/04/2018
DOI: http://dx.doi.org/10.4025/revcivet.v5i2.41111

RESUMO

A cetose bovina é uma doença metabólica que atinge vacas principalmente após o parto, podendo apresentar-se tanto na forma clínica como subclínica e muitas vezes não é percebida pelo produtor, porém causa perdas econômicas consideráveis pois há diminuição na produção de leite, maior intervalo entre partos e maior susceptibilidade a doenças secundárias. Este trabalho foi realizado com 41 vacas no pós-parto (oitavo ao sexagésimo dia de lactação), para análise comparativa entre dois métodos de diagnóstico de cetose bovina através da avaliação da presença de corpos cetônicos na urina, utilizando fita reagente em comparação com o beta-hidroxibutirato (BHB) no sangue total, utilizando aparelho portátil. O teste realizado através do exame de urina com fita reagente obteve resultado de 2,4% (1/41) de animais positivos enquanto o realizado através de aparelho automático portátil apresentou 58,5% (24/41) de positividade para cetose, todas subclínica. Pôde evidenciar que o teste com aparelho portátil é mais eficiente e é possível realizar um diagnóstico precoce, já que a cetose identificada com o teste da urina precisa estar em altas concentrações para ser positiva.

Palavras-chaves: diagnóstico; doença metabólica; corpos cetônicos

ABSTRACT

Bovine ketosis is a metabolic disease that affects cows mainly after calving, and may present both clinically and subclinically and is often not perceived by the producer, but causes considerable economic losses as there is a decrease in milk production, a longer interval between parturition and increased susceptibility to secondary diseases. This work was performed with 41 cows in the postpartum period (eighth to sixtieth day of lactation), for comparative analysis between two methods of diagnosis of bovine ketosis by means of the evaluation of the presence of ketone bodies in the urine, using reagent tape in comparison with the beta-hydroxybutyrate (BHB) in whole blood using a portable device. The test performed by urinalysis with reagent tape obtained a result of 2.4% (1/41) of positive animals while that performed by portable automated device showed 58.5% (24/41) of ketosis positivity, all subclinical. It was possible to prove that the portable device test is more efficient and it is possible to perform an early diagnosis, since the ketosis identified with the urine test must be in high concentrations to be positive.

Keywords: diagnosis; metabolic disease; ketone bodies

INTRODUÇÃO

A cetose é um transtorno metabólico frequentemente observado, em vacas leiteiras, durante o período inicial de lactação ocorrendo normalmente entre a segunda e sexta semana após o parto (MARQUES, 2003; ZHANG *et al.*, 2010).

Nas primeiras semanas de lactação um número expressivo de vacas de alta produção apresentam severas mudanças metabólicas, em virtude do balanço energético negativo (BEN), derivado do baixo consumo de matéria seca e da alta produção. Quando o consumo calórico é reduzido e as necessidades energéticas são aumentadas, a concentração de corpos cetônicos aumenta como no caso do período periparto (FLEMING, 1993; CAMPOS, *et al.*,2005).

Segundo Mc Art *et al.* (2012) alguns levantamentos revelaram que pelo menos 17,5% dos rebanhos de alta produção apresentam sinais de cetose clínica e que 43,2% possuem cetose subclínica. Para cada aumento de beta-hidroxibutirato na concentração de 0,1 mmol/L no sangue observou-se um aumento no risco de deslocamento de abomaso e descarte considerável de animais que vem a óbito, além de queda na produção de 0,5 kg de leite nos primeiros 30 dias de lactação (SAMPAIO e ÁVILA, 2011; Mc ART *et al.*, 2012). No Brasil, Corrasin (2004) avaliou dados de vacas multíparas e primíparas da raça Holandesa e verificou uma perda de 410,8 kg de leite durante toda a lactação.

Fisiopatogenia

Nas primeiras semanas de lactação ocorre a mobilização das reservas corporais para o fornecimento de energia, para o metabolismo e produção de leite. Os animais saudáveis utilizam das reservas corporais para obtenção de energia, porém, há um limite para a quantidade de ácidos graxos que pode ser manipulada pelo organismo e utilizada pelo fígado. Quando ocorre um desequilíbrio, a absorção e a produção de corpos cetônicos excedem o consumo, resultam em elevados níveis sanguíneos de corpos cetônicos e de ácidos graxos livres ou não esterificados, constituindo fatores predisponentes para a doença conhecida como cetose (FLEMING, 1993; CAMPOS, *et al.*,2005; BERCHIELLI *et al.*, 2006; GOFF *et al.*, 2006).

Atingindo estes limites, as gorduras não fornecem mais energia e começam a se acumular nas células do

fígado como triglicerídeos e alguns dos ácidos graxos são convertidos em cetonas (GUARD, 1996; GOFF *et al.*, 2006). Na tentativa de aumentar a gliconeogênese e controlar o BEN mobilizam-se mais triglicerídeos dos estoques de gordura corporal. Os triglicerídeos são hidrolisados e liberados em ácidos graxos não esterificados. No fígado, os triglicerídeos são novamente sintetizados a partir dos ácidos graxos não esterificados, onde são armazenados ou libertados na forma de lipoproteínas de baixa densidade, as quais são sintetizadas no fígado (KANEKO *et al.*, 1997, SMITH, 2008).

A cetose pode ser classificada como clínica ou subclínica; como primária ou secundária, alimentar ou espontânea, conforme sua origem. A cetose clínica apresenta facilidade no diagnóstico, pois a diminuição no cosumo de alimento e queda de produção são evidentes, já a cetose subclínica por norma não possui sinais clínicos aparentes. A cetose primária ocorre principalmente em vacas em condição corpórea boa ou excessiva, que tem alto potencial produtivo, já na secundária, a ingestão de alimentos é diminuída em consequência de outra doença. Na alimentar, a ingestão é rica em precursores cetogênicos e na espontânea a vaca apresenta elevadas concentrações de corpos cetônicos no sangue, mesmo ingerindo uma dieta adequada (GEISHAUSER *et al.*, 1998; RADOSTITIS, *et al.*, 2000; VAN CLEEF, 2009; SILVA, *et al.*, 2011; FLEMING, 2015).

Sinais Clínicos/ Diagnóstico

Os sinais clínicos são hiporexia, redução na produção de leite, rápida perda de peso, odor de acetona na respiração e posteriormente no leite e urina (FLEMING, 1993; MARQUES, 2003; SILVA, *et al.*, 2011). Geralmente as vacas comem feno ou outra forragem, mas recusam concentrados ou grão (MARQUES, 2003). Em fases mais adiantadas apresentam sinais nervosos como cambaleios, tremores musculares, convulsões, cegueira, ranger dos dentes, decúbito, coma e morte (GARCIA, *et al.*, 1996; SAMPAIO e ÁVILA, 2011). Sábado

O diagnóstico de cetose clínica consiste basicamente em informações do histórico do animal, exame clínico e complementar. Já o diagnóstico de cetose subclínica se baseia na detecção de corpos cetônicos no leite, na urina ou no sangue (SAMPAIO e ÁVILA, 2011). Cerca de 80% dos hidratos de carbono ingeridos são fermentados no rúmen e dão origem a ácidos graxos

voláteis (AGV), entre eles: o ácido acético (70%), o ácido propiónico (20%) e o ácido butírico (10%) em bovinos com cetose o beta-hidroxibutirato é o principal corpo cetônico, o qual apresenta níveis mais elevados no sangue (BAUMAN, 2000; SAMPAIO e ÁVILA, 2011).

A urina apresenta-se de forma eficiente no diagnóstico da cetose; a coleta é realizada através da massagem suave na região perineal e vulvar. A análise destas substâncias deve ser realizada em no máximo 30 minutos após a colheita, pois, passado este período, a redução das concentrações pode chegar até 40% (ORTOLANI, 2002; VAN CLEEF, 2009). Provas para detectar corpos cetônicos na urina incluem: fitas reativas (Mutistix, Ketostix. Labstix e Combur-test); tabletes reagentes Acetest (Ames Co); prova de Lestradet; prova de Rothera (BOUDA, *et al.*, 2000).

O diagnóstico mediante amostragem sanguínea é realizado com aparelho eletrônico portátil, para detecção do aumento do nível dos corpos cetônicos, principalmente o beta-hidroxibutirato (BHB). Por meio de um aparelho humano (Monitor,OPTIUM Xceed), afere-se o BHB e a glicose no sangue. Ocorre uma reação eletroquímica entre o BHB e o reagente da tira do aparelho, gerando uma corrente elétrica. O tamanho da corrente é proporcional às concentrações de BHB em mmol/L de sangue (IWERSEN, 2009).

A concentração padrão de BHB no sangue total apresenta divergências na bibliografia quanto aos valores de referência para diferenciar se apresenta ou não cetose. Duffield (2000); Geishauser *et al.* (2000); Oetzel e McGuirk (2007); Iwersen (2009) e Duffield *et al.* (2009) recomendaram como ponto de referência a concentração de 1,2 mmol/L quando mensurados via aparelho portátil e no caso de dosagem BHB laboratorial o valor a ser utilizado seria 1,4 mmol/L. Já segundo Wittwer (2000), os valores aceitáveis são de 0,5mmol/L, e para vacas no início de lactação, quando podem ser considerados normais valores de até 0,8mmol/L. Entretanto, Geishauser *et al.* (1998); Bouda, *et al.* (2000) e González (2000) citam como valores normais até 1,0 mmol/L e valores entre 1,0 e 3,0 mmol/L como indicadores de cetose subclínica.

Também têm sido realizados estudos para determinar BHB em amostras de leite, devido à facilidade de obtenção de amostras e ao fato que o BHB é estável, diferentemente dos outros corpos cetônicos, que são

voláteis. Com este objetivo, tem sido desenvolvido um método semiquantitativo, baseado em química seca (uso de fitas reagentes), que produz uma reação de cor violeta, cuja intensidade é proporcional à concentração do BHB na amostra (WITTWER, 2000).

O objetivo deste trabalho foi identificar qual método de diagnóstico de cetose subclínica e clínica é mais eficaz, com maior precisão de dados, maior facilidade em coleta e melhor relação.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido no município de Francisco Beltrão, Paraná, Latitude: 26º 04’ 42” S Longitude: 53º 03' 11" W Altitude: 570m, clima pela classificação de koppen.

Foram coletadas amostras de sangue e de urina de 41 vacas primíparas e multíparas, em várias propriedades com diferentes manejos; todos os animais eram vacas recém - paridas entre o oitavo e sexagésimo dia de lactação, das raças Holandesas, Jersey e mestiças. As coletas foram realizadas em um período de 90 dias entre os meses de setembro a dezembro.

Primeiramente foi feito a coleta de urina, mediante indução da micção por massagem perineal e avaliação com fita reagente (LABOR IMPORT) (Figura 1 a), a qual foi colocada em um recipiente limpo e mergulhada por 40 segundos para leitura. O método realizado foi seguindo as indicações de Bouda *et al.* (2000), cuja a avaliação é realizada através da alteração da coloração da fita após sua imersão em urina. A reação positiva é indicada pela coloração rosa até púrpura, variando conforme a concentração de cetonas presentes.

Em seguida foi coletando uma gota de sangue dos mesmos animais, por meio da punção coccígea com agulha 40X12 e posterior avaliação com a fita (Opituim β-Ketone) e leitura no aparelho (FreeStyle Opituim) (Figura 1 b), o qual mostra o resultado em 10 segundos automaticamente, após colocar uma gota de sangue na fita.

Para realização do exame de sangue total com aparelho eletrônico, pode-se observar uma divergência grande de padrões de referências, ocorrendo, assim uma diferença de valores alta entre os índices indicados. Para referência neste trabalho foram utilizados os parâmetros descritos por Wittwer (2000), cujos valores aceitáveis para vacas de inicio de lactação são de até 0,8 mmol/L, que de certa forma engloba todos os padrões. Todos os

testes foram realizados imediatamente após a coleta.

A estatística foi desenvolvida e avaliada pelo programa R através do Teste Exato de Fisher para comparação de positividade entre o teste de urina e o teste com as amostras de sangue total.

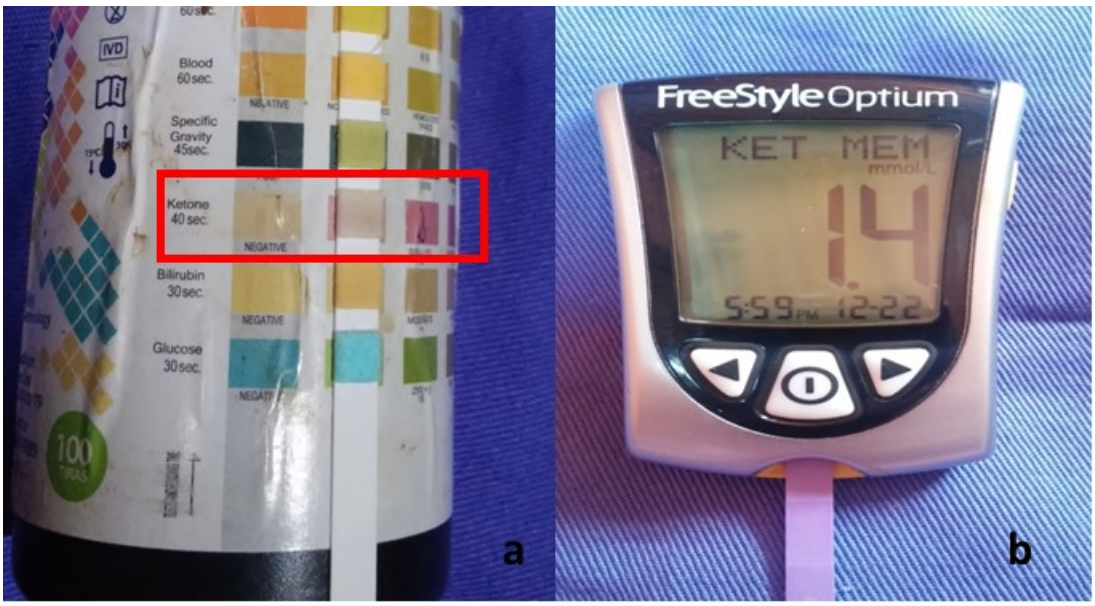

Figura 1. Teste realizado por meio de fita reagente (LABOR IMPORT) (a). Teste realizado por aparelho portátil (FreeStyle Opituim) (b)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste realizado através do exame de urina com fita reagente para indicar positividade ou negatividade de cetonas obteve resultado de 2,4% (1/41) de animais positivos (Tabela 1).

Este teste é qualitativo e apresenta baixa especificidade o qual reage com o ácido acetoacético e têm como princípio ativo o nitroprussiato de sódio, que, em presença de corpos cetônicos em meio saturado por amônia, muda a cor original da fita em proporção ao nível de corpos cetônicos (GEISHAUSER *et al.*, 1998; GEISHAUSER *et al.*, 2000). Este método de diagnóstico apresentou na ocasião um menor custo, sendo que um frasco contendo 150 fitas representou custo de R$ 35,84, ou R$ 0,22 por exame.

Já o teste realizado através de aparelho automático portátil com utilização de uma gota de sangue apresenta uma mensuração quantitativa do beta-hidroxibutirato. Esta avaliação se da por monitor eletrônico e automático (SAMPAIO e ÁVILA, 20011). Os corpos cetônicos são o beta-hidroxibutirato, o acetoacetato e o

acetato, produtos do metabolismo dos ácidos graxos, que são produzidos normalmente pela parede do rúmen e pelo fígado. A produção de ácidos graxos é a principal fonte de corpos cetônicos produzidos durante a cetose (GORDON *et al.*, 2013). A apresentação comercial destas fitas se dá em uma caixa com dez fitas com o custo de R$ 42,21, ou R$ 4,21 por exame. E o aparelho portátil apresentou custo de R$ 40,00.

Os testes realizados através do sangue total apresentaram valor de 58,5% (24/41) de positividade para cetose, todas subclínicas (Tabela 1).

Tabela1. Valores aferidos através do exame por fita reagente pela urina (positivo/negativo) e de sangue total por aparelho portátil avaliando os níveis plasmáticos de beta-hidroxibutirato (mmol/L).

Vaca	Urina	Sangue
1	-	0,9 mmol/L
2	-	1,2 mmol/L
3	-	0,9 mmol/L
4	-	1,2 mmol/L
5	-	1,2 mmol/L
6	-	0,6 mmol/L
7	-	0,4 mmol/L
8	-	0,4 mmol/L
9	-	0,8 mmol/L
10	-	1,0 mmol/L
11	-	0,6 mmol/L
12	-	0,6 mmol/L
13	-	1,4 mmol/L
14	+	2,8 mmol/L
15	-	0,7 mmol/L
16	-	0,9 mmol/L
17	-	0,9 mmol/L
18	-	1,1 mmol/L
19	-	1,1 mmol/L
20	-	0,9 mmol/L
21	-	1,4 mmol/L
22	-	0,7 mmol/L
23	-	0,9 mmol/L
24	-	0,9 mmol/L
25	-	0,8 mmol/L
26	-	0,9 mmol/L
27	-	0,9 mmol/L
28	-	0,5 mmol/L
29	-	1,6 mmol/L
30	-	0,2 mmol/L
31	-	0,3 mmol/L
32	-	0,3 mmol/L
33	-	0,9 mmol/L
34	-	0,4 mmol/L
35	-	0,9 mmol/L
36	-	0,9 mmol/L
37	-	0,9 mmol/L
38	-	0,8 mmol/L
39	-	0,8 mmol/L
40	-	0,4 mmol/L
41	-	0,9 mmol/L

Os dados estatísticos foram avaliados pelo programa R através do Teste Exato de Fisher demonstraram resultado igual a $1,671 \times 10^{-8}$ considerando um nível de significância de 5%. Como o valor apresentado foi inferior a este número (0,5), pode-se afirmar que os valores da fita de urina são estatisticamente diferentes do teste com amostras de sangue.

O teste de urina necessita de altas concentrações de BHB para manifestar positividade, já que apresentou positividade apenas em uma vaca que estava com 2,8 mmol/L de BHB. A aferição deste no sangue é mais exata fornecendo dados mais precisos e mostrando maior positividade em relação à fita de urina. Isso se deve ao fato do teste com o uso do aparelho portátil ser mais sensível que o com uso de fitas de urina. Este aspecto foi confirmado por Geishauser *et al* (1998) e Geishauser *et al.* (2000) que relataram que o teste em fitas de papel reagente se trata de um método qualitativo e apresentaram menor sensibilidade e especificidade do que outros testes disponíveis, justificando a falta de correlação entre os resultados do teste com a fita de urina e o teste com a amostra de sangue.

Pode-se observar que o exame de sangue total apresentou maior precisão e sensibilidade elevada em relação ao teste de urina, pois foram identificados 58,5% de animais positivos, sendo que o exame de urina identificou apenas 2,4% de positividade demonstrando que na avaliação da urina há um índice de 56,1% de falso-negativos. Apesar de apresentar menor custo, o método com o uso de fita não identifica a cetose quando o BHB esta em baixos níveis. Desta forma ele inviabiliza um diagnóstico precoce da doença, levando a prejuízos na produção leiteira além de maiores gastos no tratamento destes animais quando forem realmente identificados como doentes.

Segundo McArt *et al.* (2015), que realizou levantamento dos prejuízos causados pela cetose bovina, foi estimado um valor de US$ 289 por animal, tanto para animais primiparos como multíparos, o qual se eleva a custos quatro a sete vezes maiores em casos de doenças secundárias coadjuvantes causadas pela cetose, além de prejuízos com infertilidade ou até mesmo o óbito dos animais.

Os resulta dos deste trabalho apresentaram discordância das informações citadas por Herdt (1988) e

Campos et. al (2005), pois sugeriram que a fita reagente para urina pode ser considerado obsoleta. Herdt (1988) afirmou que a utilização no teste de urina era mais adequado como método de triagem, pois assegurava que a cada quatro mols de corpos cetônicos na urina, encontrar-se-á um no sangue e cerca de 0,5 no leite. Campos et. al (2005), relataram que a cetose subclínica pode ser monitorada mediante uma rápida e econômica prova de campo utilizando fita reagente de detecção de corpos cetônicos na urina, o qual não foi confirmado na presente pesquisa.

Já segundo Duffield (2009) e Ortolani (2002), os testes de cetose realizados na urina não possuem boa especificidade. Desse modo, podem apresentar resultado negativo e parte dos corpos cetônicos pode ser utilizada como energia por vários tecidos, inclusive o renal, e uma quantidade deles é excretada pela urina, pelo leite e pelo ar exalado. Pequenas quantidades no sangue não chegam a alcançar a urina, pois, embora filtrados pelos glomérulos, são em seguida reabsorvidos pelos túbulos renais e metabolizados por suas células. Foi confirmado nos resultados demonstrado no trabalho, por meio do exame de sangue total que apresentou uma precisão muito maior em comparação ao exame de urina.

CONCLUSÃO

No presente trabalho verificou-se que o exame realizado pela fita reagente de urina teve um alto índice de falso-negativo. O exame com aparelho portátil que avaliou o beta-hidroxibutirato do sangue total demonstrou maior precisão nos dados e facilidade na coleta de material em relação ao teste de urina. Apesar do custo mais elevado, foi demonstrado que o investimento apresenta vantagens, pois se evidenciou que é possível realizar um diagnóstico precoce, já que a cetose identificada com o teste da urina precisa estar em altas concentrações para ser positiva.

REFERÊNCIAS

BAUMAN, D. E. Regulation of nutrient partitioning during lactation: Homeostasis and homeorhesis revisisted. In: CRONJE, P. B., **Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction**, Oxford University Press ed., Oxford, England, 2000, p. 311-328.

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal. Editora Fundação de Apoio a Pesquisa, Ensino e Extensão, 2006.

BOUDA, J.; QUIROZ-ROCHA, G.; GONZÁLEZ, F. H. D. Importância da

coleta e análise de liquido ruminal e urina. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; BORGES, J. B,; CECIM, M. **Uso de provas de campo e de laboratórios clínicos em doenças metabólicas e ruminais dos bovinos**. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000, p. 13-16.

CAMPOS, R.; GONZÁLEZ, F.; COLDEBELLA, A.; LACERDA, L. Determinação de corpos cetônicos na urina como ferramenta para o diagnóstico rápido de cetose subclínica bovina e relação com a composição do leite. **Archives of Veterinay Science**, v. 10, n. 2, 2005 p. 49-54.

CORASSIN, C. H. **Determinação e avaliação de fatores que afetam a produtividade de vacas leiteiras. Aspectos sanitários e reprodutivos**. Tese Doutorado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo (USP), 2004, p.113.

DUFFIELD, T. F. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. **Veterinary Clinics of North America-food Animal Practice**, 2000, p. 231-253.

DUFFIELD, T. F.; LISSEMORE, K. D.; MCBRIDE, B. W.; LESLIE, K. E. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production**. Journal Dairy Scince**, v. 92, 2009, p.571.

FLEIMING, S. A. Cetose dos ruminantes (acetonemia). In: MADIGAN, J. E.; DYBDAL, N. O. Moléstias endócrinas e metabólicas. In: SMITH, B. P. **Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais**. São Paulo: Manole, v.2, 1993, p. 1297-1304.

FLEIMING, S. A. Endocrine and Metabolic Diseases. In: SMITH, B. P. **Large Animal Internal Medicine**, Elsevier Saunders, Ed.5, 2015, 1223-1275.

GARCIA, M.; LIBERA, A. M. M. P. D.; BARROS FILHO, I. R. Descrição das doenças. Acetonemia. **Manual de Semiologia e Clínica de Ruminantes**. São Paulo: Varela, 1996, p. 153-154.

GEISHAUSER, T.; LESLIE, K.E.; KELTON, D.F.; DUFFIELD, T. Evaluation of eigth cowside test for use with milk to detect subclinical ketosis in dairy cows. **Journal Dairy Science**, Champaign, n. 81,1998, p. 438-443.

GEISHAUSER, T.; LESLIE, K.E.; TENHAG, J.; BASHIRI, A. Evaluation of eight cow side ketone test in milk for detection of subclinical ketosis in dairy cows. **Journal Dairy Science**, Champaign, n. 83, 2000, p. 296-299.

GOFF, J. Principais síndromes que acometem as vacas leiteiras no período periparto. In: WORLD BUIATRICS CONGRESS, 2006, França. **Proceedings**... França: World Buiatrics Congress, 2006, p.24.

GONZÁLEZ, F. H. D. Uso de perfil metabólico no diagnóstico de doenças metabólico-nutricionais. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; BARCELLOS, J. O., OSPINA, H. RIBEIRO, L. A. O. **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000, p. 89-104.

GORDON J. L., LEBLANC S. J., DUFFIELD T. F. Ketosis Treatment in Lactating Dairy Cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. n.29 p.433–445, 2013.

GUARD, C. L. Fresh cow problems are costly: culling hurtsthe most. **Hoard's Dairyman**, v. 141, 1996, p. 8.

HERDT, T. H. Metabolic diseases of ruminant livestock. **The Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice** v.4, n.2, 1988, p.213-220.

IWERSEN, M. *et al.* Evaluation of an electronic cowside test to detect subclinical ketosis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, 2009, p. 2618–2624.

KANEKO, J.J., HARVEY, J.W. e BRUSS, M. **Clinical biochemistry of domestic animals, Gulf Professional Publishing,** 1997, s.p.

MARQUES, D. C. Doenças da produção em vacas leiteiras: cetose. **Criação de Bovinos**, 2003 p. 388.

MCART, J. A. A.; NYDAM, D. V.; OETZEI, G. R. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy catle. **Journal of Dairy Science**, n.9, 2012.

MCART, J. A. A.; NYDAM, D. V.; OETZEI, G. R. Hyperketonemia in early lactation dairy cattle: A determinstc estimate of component and total cost per case. **Journal of Dairy Science**, Vol. 98, N°. 3, p. 2043 – 2054, 2015.

OETZEL, G. R. MCGUIRK, S. Cow side blood BHBA testing with a hand-held ketometer fact sheet. Wisconsin: **University of Wisconsin-Madison School os veterinary medicine**, 2007.

ORTOLANI, E. L. Diagnóstico de doenças nutricionais e metabólicas por meio de exame de urina em ruminantes. In: Avaliação metabólica - nutricional de vacas leiteiras por meio de fluídos corporais. **29º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária,** Gramado, 2002, p. 18-22.

trics, Santiago de Chile, Chile, 2010.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOND, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. Doenças metabólicas. In: RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOND, D. C.; HINCHCLIFF, K. W **Clínica Veterinária. Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos**. Rio de Janeiro, 9 ed., cap. 28, 2000, p. 1275-1327.

SAMPAIO, P. H.; ÁVILA, L. G. Cetose em vacas leiteiras (revisão de literatura). **Revista +Ruminantes**, ano 4, n. 20, 2011, p.26-31.

SILVA, J. C. P. M.; VELOSO, C. M.; NASCIMENTO, V. A. DIAS, M. Doenças nutricionais. Cetose. **Principais doenças em bovinos**, Viçosa, MG, cap. 5, 2011, p. 90-92.

SMITH, B.P. Cetose Bovina. **Medina Interna de Grandes Animais**. São Paulo, 2008, p. 1306-1307.

VAN CLEEF, H. E. Distúrbios metabólicos por manejo alimentar inadequado em ruminantes: novos conceitos. **Revista Colombiana Ciência Animal**, 2009, p. 34-42.

WITTWER, F. Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: GONZÁLES, F. H. D.; BARCELLOS, J. O.; OSPINA, H.; RIBEIRO, L. A. O. **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do sul, 2000, p. 9-22.

ZHANG, Z. G.; WANG, Z.; LIU, G. W.; LI, X. B.; WANG. H. B. Serum antioxidant capacity of dairy cows with subclinical ketosis. **Veterinary Records**, vol. 8, nº 168, 22a, 2011.