

AMÉLIA CRISTINA MENDES DE MAGALHÃES

TEORES DE NITROGÊNIO URÉICO NO LEITE E NO PLASMA DE VACAS  
MISTIÇAS

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

VIÇOSA

MINAS GERAIS – BRASIL

2003

AMÉLIA CRISTINA MENDES DE MAGALHÃES

TEORES DE NITROGÊNIO URÉICO NO LEITE E NO PLASMA DE VACAS  
MISTIÇAS

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

APROVADA: 28 de fevereiro de 2003

---

Prof. José Ivo Ribeiro Júnior  
(Conselheiro)

---

Prof.<sup>a</sup> Rilene Ferreira Diniz Valadares  
(Conselheira)

---

Prof.<sup>a</sup> Maria Ignez Leão

---

Prof. Deiler Sampaio Costa

---

Prof. Pacífico Antônio Diniz Belém  
(Orientador)

***“Comece fazendo o que é necessário, depois o que é possível, e de repente você estará fazendo o impossível”***  
***(São Francisco de Assis)***

*Aos meus pais, **Carlos e Ignez Maria**, garantia de amor, cumplicidade e proteção, incondicionais*

***Dedico.***

## **AGRADECIMENTOS**

Ao senhor Deus, sem dúvida a grande certeza de minha vida.

À minha família, meus pais, irmãs, cunhados e sobrinhos, companheiros nas alegrias e tristezas, motivos de orgulho, sempre.

Ao Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, pela acolhida amigável e respeitosa.

Ao Prof. Pacífico Antônio Diniz Belém, pela orientação responsável e dedicada, pelos aconselhamentos e ensinamentos e pelo exemplo de profissionalismo e seriedade.

À FAPEMIG, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. José Ivo Ribeiro Júnior, pela criteriosa orientação na realização das análises estatísticas.

Às Prof.<sup>as</sup> Rilene Ferreira Diniz Valadares e Maria Ignez Leão, pela confiança e apoio acadêmico.

Ao Prof José Maurício de Souza Campos, pela permissão para coleta de material de animais pertencentes ao rebanho da Universidade Federal de Viçosa.

Ao Programa de Desenvolvimento da Pecuária de Leite (PDPL), na figura do Zootecnista Cristiano Nascif, pela oportunidade de coletar material em propriedades conveniadas.

Aos produtores rurais: Afonso Frederico, Antônio Maria, Dimas Diogo, Juliano Ludjero, Neuza Monteiro, Paulo Frederico, Paulo Melo Lima, Sérgio Maciel e Vera Gomide, pela confiança depositada.

Aos funcionários do Departamento de Veterinária da UFV, pelo carinho e amizade imprescindíveis.

Ao funcionário e amigo Cláudio Roberto Fialho, pelo companheirismo e auxílio irrestritos nas coletas de campo.

Aos funcionários Maria Lucinda e Luís Márcio, pela inesquecível e amigável convivência no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da UFV.

À Rosinéia (Rose), Secretária da Pós-Graduação do DVT-UFV, pelo auxílio e monitoramento acadêmico.

Aos colegas Fábio Augusto Aristizabal Mena, Daniel Pinto Coutinho e Marcel Ferreira B. Avanza, pela colaboração na coleta de material de campo.

À Jeferson Ferreira da Fonseca, pelo companheirismo, compreensão e apoio (emocional e profissional).

Aos meus amigos Géison, Luciane, Márcia, Nadja, Patrícia e Robson, pelo convívio alegre e fraternal.

À todos que direta ou indiretamente participaram deste trabalho.

Obrigada!

## **BIOGRAFIA**

Amélia Cristina Mendes de Magalhães, filha de Carlos Augusto de Magalhães e Ignez Maria Mendes Ferreira de Magalhães, nasceu em 21 de agosto de 1972, no município de Viçosa, Minas Gerais.

Graduou-se em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Viçosa, em 14 de janeiro de 1994.

Concluiu o Curso de Pós-Graduação “*Lato Sensu*” em Medicina Veterinária, na Área de Clínica e Cirurgia de Grandes Animais, pela Universidade Federal de Viçosa, em fevereiro de 1995.

Lecionou como Professora Substituta/Auxiliar I no Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, no período de 10 de março a 9 de julho de 1995.

Atuou como Médica Veterinária responsável pela Usina de Beneficiamento de Leite A Roldi Indústria e Comércio Ltda e pela Fazenda Santa Bárbara, localizadas no município de Fundão, estado do Espírito Santo, no período de 1º de agosto de 1995 a 30 de julho de 2001.

Em agosto de 2001, foi admitida como estudante especial pela Universidade Federal de Viçosa para o período letivo correspondente.

Em abril de 2002, matriculou-se no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, em nível de mestrado, e em fevereiro do ano seguinte, submeteu-se à defesa de tese.

## CONTEÚDO

Resumo .....	vii
Abstract .....	ix
1. Introdução .....	1
2. Revisão de Literatura .....	6
3. Material e Métodos .....	13
3.1. Determinação dos teores de nitrogênio uréico no leite empregando-se kits comerciais recomendados para amostras de sangue e urina.....	13
3.2. Teores de nitrogênio uréico no leite e no plasma de vacas mestiças ..	16
4. Resultados e Discussão .....	20
4.1. Determinação dos teores de nitrogênio uréico no leite empregando-se kits comerciais recomendados para amostras de sangue e urina.....	20
4.2. Teores de nitrogênio uréico no leite e no plasma de vacas mestiças ..	24
5. Conclusões.....	37
6. Referências Bibliográficas .....	39

## RESUMO

MAGALHÃES, Amélia Cristina Mendes de, M.S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro, 2003. **Teores de nitrogênio uréico no leite e plasma de vacas mestiças.** Orientador: Pacífico Antônio Diniz Belém. Conselheiros: Rilene Ferreira Diniz Valadares e José Ivo Ribeiro Júnior.

Esta pesquisa objetivou, inicialmente validar o emprego de kits comerciais colorimétricos enzimáticos (KITS URÉIA CE) também para leite. Foram coletadas 35 amostras de leite e cada uma subdividida em cinco alíquotas, das quais duas foram remetidas a laboratórios de referência (LR) e as demais analisadas por meio de KITS URÉIA CE. Antes da análise, porém, cada uma destas foi submetida a centrifugação (2300 x g durante 30 min) ou precipitação com ácido acético glacial associada à centrifugação ou precipitação com ácido tricloroacético a 25% seguida de filtração (TCA). Os dois LR obtiveram resultados diferentes ( $P > 0,05$ ) mas altamente correlacionados ( $r= 0,95$ ). Os teores de NUL determinados nas alíquotas submetidas aos três procedimentos referidos acima apresentaram altas correlações entre si e com os LR, porém apenas os resultados obtidos empregando-se o procedimento TCA foram equivalentes aos encontrados por um dos LR ( $P < 0,05$ ). Diante disto e pelas facilidades de execução, o procedimento TCA foi empregado na etapa seguinte desta pesquisa. Nela, foram utilizadas dez fazendas na região de Viçosa, para as quais um único dia foi reservado para a obtenção de amostras de leite durante a ordenha da

manhã (apenas vacas sadias e com menos de trinta dias pós parto). Em paralelo, foram obtidas amostras de sangue, com anti-coagulante, das vacas secas híidas e com previsão de parto não inferior a vinte dias. Ao final da ordenha, em cada propriedade, foi recolhida uma amostra de leite do tanque de expansão e registradas as informações relativas aos lotes de vacas em lactação e secas: alimentação, nº de animais e, para as primeiras, produção média diária de leite. Em uma única propriedade, foram colhidas também amostras de sangue das vacas em lactação (n = 35) logo após a ordenha. Os resultados evidenciaram que, dos 33 lotes de produção identificados, apenas seis apresentaram teores médios de NUL entre 12 e 16 mg/dL e três acima desta faixa. Em seis propriedades todos os lotes (n=15) apresentaram teores de NUL bem inferiores a 12 mg/dL e, nas demais, outros oito lotes apresentaram valores similares. Quando os 33 lotes de produção foram agrupados em quatro categorias de acordo com a produção de leite (A:  $\geq 25$  Kg; B: 20-25 Kg; C: 15-20 Kg e D:  $\leq 15$  Kg), os teores médios de NUL calculados para cada uma delas e os respectivos intervalos de confiança foram de  $17,35 \pm 3,79$  mg/dL;  $8,28 \pm 4,18$  mg/dL;  $7,29 \pm 4,29$  mg/dL e  $6,25 \pm 3,65$  mg/dL. Foi observado, também, que nas sete propriedades em que os teores de NUL das amostras dos tanques foram menores que 12 mg/dL, 95,2% (20/21) dos lotes de produção apresentaram comportamento semelhante quanto aos seus teores médios de NUL. Nas outras três propriedades onde os teores de NUL nas amostras dos tanques foram superiores a 16 mg/dL, havia pelo menos um lote com teor médio de NUL acima do referido valor. Quanto às vacas secas, em apenas uma fazenda os teores de NUP situaram-se acima de 16 mg/dL e em oito estavam abaixo de 12 mg/dL. Concluiu-se, então, que em rebanhos leiteiros constituídos de vacas mestiças, apenas lotes com produções médias diárias acima de 20 Kg de leite requerem atenção quanto a excessos de proteínas na dieta e suas conseqüências. A maioria dos lotes de vacas em lactação e secas, no entanto, apresentam, respectivamente, teores médios de NUL ou NUP muito baixos, que refletem inadequações em termos de dieta protéica. Nestas fazendas, as amostras recolhidas dos tanques de expansão também se caracterizam, via de regra, pelas baixíssimas concentrações de NUL que encerram.

## ABSTRACT

MAGALHÃES, Amélia Cristina Mendes de, M.S., Universidade Federal de Viçosa, February, 2003. **Milk and plasma urea nitrogen on crossbreed cows**. Adviser: Pacífico Antônio Diniz Belém. Committee members: Rilene Ferreira Diniz Valadares and José Ivo Ribeiro Júnior.

The objective of this study was to validate the use of results of commercial enzymatic kits (KITS UREA CE), also to milk. Samples ( $n = 35$ ) were collected and each one was divided into five aliquots. Two of which were sent to reference laboratories (LRs) and the others were analysed by means of KITS UREA CE. Before the analysis, however, each of these was submitted to different procedures: centrifugation at  $2300 \times g$  during 30 min (CENT), precipitation with glacial acetic acid associated to the centrifugation (ACET) or precipitation with 25% trichloro acetic acid followed by filtration (TCA). MUN values differed between laboratories ( $P > 0.05$ ), but were highly correlated ( $r=0.95$ ) with each other. MUN values from TCA, ACET and CENT were highly correlated among each other and the LRs but only the samples submitted to TCA procedure presented equal results ( $p < 0.05$ ) to the one of the LR. Hence, the TCA technique was used in the subsequent step of this study, in which 10 farms located in the surroundings of Viçosa-MG were utilized. For each farm it was reserved one day to collect the milk samples during the morning milking (only healthy cows with less than 30 days after calving). Following, blood samples of dry and healthy cows, with expected calving greater than 20 days, were collected. As soon as the morning milking finished, one sample of milk

bulk was collected in each property and the information about the groups of lactation or dries cows (food, number of cows and milk production) were recorded. In only one of the farms samples from lactation cows (n = 35) were also collected immediately after the morning milking. The results showed that only six of the 33 groups of cows obtained MUN average values between 12 and 16 mg/dL and three others showed MUN greater than 16 mg/dL. Despite of this, in six farms all groups of cows (n=15) presented MUN average values much lower than 12 mg/dL and in the others farms eight groups showed similar values. When the 33 groups of cows were arranged in four categories according to milk production (A:  $\geq 25\text{Kg}$ ; B: 20-25Kg; C: 15-20Kg and D: $\leq 15\text{Kg}$ ) the MUN average values calculated for each one of them and the respective intervals were  $17.35 \pm 3,79$ ,  $8.28 \pm 4.18$ ,  $7.29 \pm 4.29$  and  $6.25 \pm 3.65$  mg/dL. It was also observed that in seven farms where the MUN values of the samples of bulk milk were lower than 12mg/dL 95,2% (20/21) of the productions groups presented similar behavior in relation to MUN average values. Three other farms showed MUN values in bulk milk samples higher than 16mg/dL and had at least one feeding group with MUN average elevated. From ten farms, only one presented PUN average values in dry cows superior to 16 mg/dL and other eight presented values lower than 12 mg/dL. This study concludes then that ,in crossbreeding milking herds, only groups of cows with daily milk production greater than 20 mg/dL require attention in relation to excess of protein the diet and its effects. The majority of lactating and dries cows groups showed respectively MUN and PUN values very low demonstrating inadequacy in terms of protein diet. In these farms, the milk samples collected from bulk milk were also characterized by the very low MUN values that were presented.

## 1. INTRODUÇÃO

A produção de leite, no Brasil, apresentou um crescimento de aproximadamente 87% entre 1980 e 2001. No mesmo período, o número de vacas ordenhadas aumentou em apenas 7%<sup>1</sup>. Isto demonstra uma significativa elevação da produtividade animal, cujos principais fatores determinantes foram a implementação e o desenvolvimento de novas tecnologias, a crescente profissionalização do setor e, obviamente, a melhoria genética dos rebanhos.

Segundo WARD (2000), os progressos na seleção genética para produção de leite, em geral, superam as melhorias em manejo, qualidade e quantidade de alimentos fornecidos. Entretanto, a nutrição e seus efeitos sobre o metabolismo e produção animal são fatores determinantes para a expressão do potencial genético animal, necessitando, portanto, de adequações.

O monitoramento da nutrição de rebanhos leiteiros é imprescindível para o gerenciamento da sanidade animal integrado ao controle da produção. No entanto, há muitos problemas práticos na determinação das frações dos ingredientes da dieta efetivamente digeridas, absorvidas e utilizadas no metabolismo dos animais. Ademais, erros podem ser cometidos nos cálculos e formulações das rações bem como nas estimativas de consumo dos animais (EICHER et al., 1999).

---

<sup>1</sup> Fonte: IBGE (Censo Agropecuário e Pesquisa da Pecuária Municipal)

Um aspecto adicional a ser ressaltado é que, no Brasil e outros países de clima tropical, a formulação de dietas a partir de sistemas de alimentação elaborados em países de clima, vegetação e animais adaptados a condições temperadas são fatores que podem contribuir para erros (SOCORRO et al., 2001).

Visando contornar tais problemas, indicadores bioquímicos têm sido utilizados, entre os quais os teores de nitrogênio uréico encontrados no plasma (NUP) e no leite (NUL). Ambos dependem do metabolismo energético e protéico intra-rumenais e, em animais hípidos, são bons indicadores do balanço entre esses dois componentes da dieta (HOF et al., 1997; EICHER et al., 1999).

A determinação dos teores de NUP e NUL tem sido um instrumento utilizado para monitorar a nutrição e prevenir transtornos de origem metabólica. Estes parâmetros bioquímicos prestam-se tanto para adequação de dietas visando ganhos em produção (nos casos de insuficiente fornecimento de proteínas), quanto nas situações envolvendo perdas econômicas decorrentes da inclusão de nitrogênio acima das quantidades requeridas (PERES, 2001). Sabe-se que o excesso de proteínas, além de aumentar o custo da alimentação, também acarreta redução na fertilidade dos rebanhos (BUTLER et al., 1998) e perdas de nitrogênio na urina, com reflexos negativos ao meio ambiente (JONKER et al., 2002). Em contrapartida, quantidades insuficientes também podem causar prejuízos à fertilidade e à produção de leite (GUSTAFSSON & CARLSON, 1993; BAKER et al., 1995).

O excesso de nitrogênio na dieta pode comprometer a reprodução e, conseqüentemente, a produção do rebanho. BUTLER & SMITH (1989) constataram diminuição nas taxas de concepção em rebanhos leiteiros associadas ao aumento na capacidade genética para produção de leite. A elevação do teor protéico na dieta, com o intuito de manter ou aumentar a produção de leite, culminou com a elevação dos teores de nitrogênio uréico observada nos líquidos biológicos. Isto pode acarretar diminuição da eficiência reprodutiva dos rebanhos (BUTLER, 1998), pois estes altos teores são tóxicos para tecidos do sistema reprodutor (FERGUSON & CHALUPA, 1989) e alteram

o pH e as secreções iônicas uterinas (BUTLER et al., 1996; BUTLER, 1998; ELROD et al., 1993; LARSON et al., 1997).

Segundo FERGUSON & CHALUPA (1989) e MOORE & VARGA (1996), altos teores de nitrogênio uréico afetam a formação do ovócito, assim como a sobrevivência dos gametas masculinos e femininos, além de interferirem nas funções dos cílios da tuba uterina.

MACMILLAN et al. (1996) e WESTWOOD et al. (1998) não observaram efeitos negativos sobre a reprodução em animais mantidos em pastagens australianas contendo elevados teores de proteína bruta altamente degradáveis. Eles sugeriram a possibilidade de ocorrência de adaptações na função hepática dos animais frente à ingestão de altos teores de proteínas por períodos prolongados.

Segundo HAMMOND (1997), determinações de NUP e NUL são solicitadas como recursos para diagnóstico retrospectivo envolvendo a análise da resposta biológica de ruminantes à suplementação com energia ou proteína e às mudanças relativas ao tipo de forragem ou pastagem oferecidas aos animais. O conhecimento dos teores dos referidos indicadores, associado às análises dos componentes protéicos degradáveis e não degradáveis e nível de carboidratos fermentáveis da ração, pode auxiliar na avaliação de como a proteína da dieta é utilizada.

Com base nos teores de NUL e NUP, pode-se, por exemplo, implementar ajustes visando evitar desperdícios decorrentes de perdas urinárias de nitrogênio, que acarretam prejuízos óbvios à produção animal e contaminação ambiental (SCHEPERS & MEIJER, 1998; JONKER et al., 2002). Salienta-se, neste aspecto, que a excreção urinária de nitrogênio tem correlação linear e positiva com os teores de NUP e NUL (JONKER et al., 1998; KAUFFMAN & St-PIERRE, 2001). Isto significa que os valores de NUP e NUL podem também ser utilizados para a predição do nível de contaminação ambiental por nitrogênio (KAUFFMAN & St-PIERRE, 2001; KOHN et al., 2002).

Em muitos países, torna-se preocupante o impacto ambiental resultante da incorporação de resíduos alimentares não digeridos ou não utilizados pelos animais de produção, principalmente naqueles que utilizam

sistemas de confinamento para rebanhos de leite e corte (TAMMINGA, 1992). Os dejetos animais contribuem para a poluição do ambiente por nitrogênio, principalmente em função da amônia (volatilizada para o ar) e nitratos que se incorporam ao solo e contaminam águas superficiais. SCHEPERS & MEIJER (1998) relataram que 70 a 80% da perda urinária de nitrogênio faz-se na forma de uréia. Segundo TILMAN et al. (2002), uma alternativa para a pecuária eficiente e sustentável seria a utilização de sistemas extensivos, nos quais o nitrogênio eliminado pelos animais recicla-se nas forragens, minimizando, desta forma, o impacto sobre o meio ambiente.

HUTJENS (1996), LINN (1998) e AMARAL-PHILIPS (2002) mencionaram também que teores elevados de NUL e NUP ocasionam efeitos indesejáveis sobre o sistema imunológico, mas não apontaram o mecanismo envolvido.

Análises de qualidade do leite, objetivando avaliar o produto para consumo e como matéria-prima para a indústria, têm sido aos poucos introduzidas no Brasil. Todavia, pouca atenção tem sido dada às determinações de certos constituintes que há muitos anos vêm sendo utilizadas em outros países, como os teores de NUL. Em nosso meio, tais quantificações têm se restringido a condições experimentais e, por este motivo, são escassas as informações sobre o perfil deste indicador.

Na medida em que os produtores brasileiros têm sido encorajados a aumentar a eficiência de utilização de proteínas, sob a perspectiva de redução de custos, a determinação dos teores de NUL e de NUP apresenta-se como um instrumento adequado. De fato, eles tanto permitem nortear mudanças nas dietas visando ganhos de produção quanto economizar ingredientes mais caros, se houver excesso de proteínas.

No Brasil, apenas dois laboratórios de referência estão aparelhados para efetuar determinações dos teores de NUL por meio de métodos automatizados<sup>1</sup>. Os investimentos para obtenção destes equipamentos são altos e não há ainda uma rotina que justifique sua aquisição por outros laboratórios. Assim, técnicas alternativas, mesmo que mais trabalhosas, poderiam atender plenamente demandas regionais. Nesse particular,

---

<sup>1</sup> “ChemeSpec 150 “– Bentley Instruments

procedimentos laboratoriais baseados em kits colorimétricos e enzimáticos recomendados para determinações dos teores de uréia em amostras de sangue e urina (KITS URÉIA CE) poderiam ser ajustados aos métodos de referência e passarem a ser utilizados em qualquer laboratório de patologia clínica.

Em vista da argumentação apresentada, esta pesquisa objetiva, basicamente:

1º) Validar o emprego de kits comerciais colorimétricos enzimáticos (KITS URÉIA CE) recomendados para determinação dos teores de uréia no sangue e na urina para os mesmos fins em se tratando de amostras de leite.

2º) Conhecer o comportamento dos teores de NUL e NUP de vacas lactantes e secas, respectivamente, pertencentes a diferentes rebanhos que exploram animais mestiços com aptidão leiteira.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

A proteína digestível da dieta de ruminantes pode ser degradada no rúmen (PDR) ou escapar para o abomaso e intestinos e aí sofrer digestão (PNDR). Neste caso, os aminoácidos e pequenos peptídeos resultantes são absorvidos e lançados na circulação portal, de forma semelhante à que ocorre em monogástricos. O nitrogênio oriundo da PDR, por sua vez, é usado para síntese de proteína microbiana, que só é maximizada quando a relação entre energia disponível e proteína (nitrogênio) for otimizada. Este processo pode envolver tanto a incorporação de aminoácidos livres e pequenos peptídeos liberados pela proteólise rumenal, quanto a incorporação do nitrogênio amoniacal proveniente da deaminação de aminoácidos e da hidrólise de outros compostos nitrogenados não protéicos da dieta, entre os quais a uréia (HAMMOND, 1997). Segundo AMARAL-PHILIPS (2002), a quantidade e a digestibilidade dos carboidratos são os reguladores primários da síntese de proteínas microbianas no rúmen.

Havendo excesso de nitrogênio em relação à disponibilidade de energia, ocorre aumento das concentrações de amônia intra-rumenais e aquela não utilizada na síntese protéica, é absorvida, alcança a circulação portal e assim é transportada até o fígado, onde é convertida a uréia (ciclo da uréia). O fígado também produz uréia a partir da amônia derivada da deaminação de aminoácidos absorvidos no intestino (PNDR) e dos processos relacionados ao catabolismo protéico em geral. Em qualquer dessas possibilidades, a uréia

formada é lançada na corrente sangüínea e pode ser excretada na urina (perdas de nitrogênio) ou retornar ao rúmen (reciclada, pelo epitélio rumenal, ou saliva). A uréia pode ainda se difundir para outros líquidos biológicos, incluindo o leite e secreções do endométrio, graças ao seu baixo peso molecular e à sua alta permeabilidade através das membranas celulares (BUTLER, 1998; FERGUSON, 2001; MOORE & VARGA, 1996; HUTJENS, 1996; GUSTAFSSON & PALMQUIST, 1993; YOUNG, 2001).

Sob o aspecto econômico, ressalta-se que a síntese de uréia no fígado acarreta um gasto substancial de energia que, desta forma, deixa de ser aproveitada para a produção (HAMMOND, 1997; YOUNG, 2001; AMARAL-PHILLIPS, 2002). WESTWOOD et al. (1998) ressaltaram a importância deste fato durante o período pós-parto, onde dietas com altos teores de proteína bruta agravam o balanço energético negativo.

A absorção de amônia pelas paredes do rúmen é influenciada pelo consumo de proteínas (PDR e PNDR) e de carboidratos não estruturais, cujo aumento estimula o crescimento da flora rumenal e favorece a síntese de proteína microbiana. Em decorrência disso, há diminuição dos níveis de amônia intra-rumenais e, conseqüentemente, redução dos teores de nitrogênio uréico circulantes. Ademais, o aumento da quantidade de energia absorvida pode reduzir o catabolismo protéico tecidual, contribuindo para a redução das concentrações de nitrogênio uréico nos líquidos biológicos. Portanto, a digestão rumenal de proteínas e carboidratos influencia as concentrações de NUL e NUP. (FERGUSON, 2001). Ou seja, teores aumentados de NUP e NUL sugerem excesso de proteínas (PDR e, ou, PNDR) em relação aos carboidratos fornecidos pela dieta e, em caso contrário, uma deficiência relativa de proteínas (MOORE & VARGA, 1996).

Os teores de NUP estão altamente correlacionados àqueles de amônia rumenais, bem como aos teores de NUL (HAMMOND, 1997). Diversos estudos constataram as altas correlações ( $r= 0,88$  a  $0,96$ ) entre os teores de NUL e NUP (ROSELER et al, 1993; WITTEWER et al., 1993; BAKER et al., 1995). Sabe-se que esses últimos correspondem, em termos quantitativos, a 83-98% dos valores encontrados no sangue. Há, inclusive, uma tendência a considerar que essa proporção seja da ordem de 85% (HARRIS JR., 1995;

HUTJENS, 1996). Devido a isso e à maior facilidade de obtenção de amostras, as determinações dos teores de nitrogênio uréico têm sido feitas preferencialmente em leite.

Os seguintes teores mínimos de NUL e NUP têm sido associados a algum tipo de interferência nos parâmetros reprodutivos: 14,9 mg/dL (FERGUSON et al., 1993), 15,4 mg/dL (RAJALA-SCHULTZ et al., 2001), 19 mg/dL (BUTLER et al., 1996) e 21 mg/dL (LARSON et al., 1997).

Não há um consenso quanto aos níveis considerados normais de NUL. Alguns estudos propõem que os valores ideais devam se situar entre 12 e 16 mg/dL (HUTJENS, 1996; JONKER & KOHN, 1998), 10 e 14 mg/dL (MOORE & VARGA, 1996; FERGUSON, 2001), 10 e 16 mg/dL (JONKER et al., 1998) ou 12 e 17 mg/dL (HUTJENS & BARMORE, 1995).

GOODEN et al. (2001) observaram elevadas correlações entre NUL e produção de leite e consideraram que uma possível explicação para este fato seria a utilização de rações com alto teor protéico para vacas de alta produção.

OLTNER et al. (1985) observaram elevações nos níveis de NUL proporcionais a aumentos na produção de leite. Para JONKER et al. (1999), as concentrações de NUL são mais sensíveis a alterações na produção de leite e consumo de nitrogênio dietético sendo, porém, menos afetadas pelas variações no peso corporal, número de parições e manejo.

Para determinação dos teores de NUL, amostras podem ser obtidas de tanques ou de animais individualmente. No primeiro caso, JONKER & KOHN (1998) afirmaram que os valores obtidos estão sujeitos à maior influência dos animais de produção mais elevada, porquanto eles contribuem com maior volume de leite para enchimento dos tanques de expansão. Adicionalmente, DePETERS & FERGUSON (1992) consideraram que teores de NUL, em amostras de tanques de expansão, podem não refletir problemas localizados em lotes de alimentação distintos dentro de uma mesma propriedade, já que valores baixos poderiam mascarar outros elevados, e vice-versa. Por outro lado, WITTEWER et al. (1993) observaram uma alta correlação ( $r = 0,95$ ) entre os teores de nitrogênio uréico encontrados em tanques de expansão e os valores médios calculados a partir de determinações feitas em amostras individuais de leite das vacas pertencentes aos respectivos rebanhos.

Em estudo similar, REFSDAL (1983) obteve coeficiente de correlação da ordem de 0,77.

Determinações dos teores de nitrogênio uréico em amostras de tanques são indicadas quando se deseja iniciar uma avaliação dos referidos parâmetros em um rebanho (HAMMOND, 1997; SCHEPERS & MEIJER, 1998; KOHN, 2001).

Quando os teores médios de NUL são calculados a partir de amostras individuais obtidas das vacas pertencentes a lotes distintos, sugere-se que dez animais de cada um sejam amostrados (KOHN, 2001; AMARAL-PHILLIPS, 2002) ou, pelo menos oito (FERGUSON, 2001). AMARAL-PHILLIPS (2002) ressaltou que em propriedades com até 125 vacas, todas deverão ser amostradas quando se deseja conhecer os teores médios de nitrogênio uréico de todo o rebanho ou dos grupos de alimentação. No caso de rebanhos maiores, a amostragem poderá restringir-se a 50 a 75% das vacas.

Recomendações sobre a inclusão ou não de animais entre aqueles a serem amostrados, em cada rebanho, têm sido destacadas. Neste sentido, FERGUSON (2001) salientou que todos deverão necessariamente se apresentar hígidos e com livre acesso à alimentação fornecida. Adicionalmente, EICHER et al. (1999) e WHITAKER et al. (1995) alertaram que vacas com menos de 30 dias de lactação devem ser desconsideradas. A adaptação destas à dieta no pós-parto, bem como o reduzido consumo de matéria seca, sabidamente impõem variações nos teores de NUL e prejudica a interpretação dos dados do lote de produção ao qual pertencem.

GUSTAFSSON & PALMQUIST (1993), BRODERICK & CLAYTON (1997) e GODDEN et al. (2001) observaram que a concentração de NUL é, em geral, menor em amostras colhidas pela manhã do que naquelas da tarde, o que não foi constatado por TREVASKIE & FULKERSON (1999), LYATUU & EASTRIDGE (1999) e FERGUSON (2001). SCHEPERS & MEIJER (1998) observaram alta correlação entre a concentração de uréia no leite da manhã e da tarde ( $r=0,90$ ).

FAUST & KILMER (1996) e GODDEN et al. (2001) recomendaram que as amostras de leite sejam colhidas sempre da mesma ordenha para determinação dos teores de NUL.

HAMMOND (1997) considerou que, em propriedades onde os alimentos são disponibilizados aos animais de forma constante, os teores de NUL variam muito pouco. Para minimizá-las, contudo, recomendou que as amostras fossem colhidas antes que os animais fossem alimentados, no caso de manejo em estabulação, e no início da manhã, em criações que utilizam o sistema extensivo. Para MOORE & VARGA (1996) se, nessas condições, forem encontrados altos níveis de nitrogênio uréico em amostras de leite, uma importante informação estaria sendo obtida, a despeito de não se conhecer os valores máximos alcançados ao longo do dia.

WHITAKER et al. (1995) chamaram a atenção para o fato de que apenas a utilização de amostras de leite, para a determinação dos teores de NUL, para fins de monitoramento da dieta fornecida a um rebanho leiteiro não possibilita informações sobre falhas na nutrição das vacas secas.

Atualmente, as determinações dos teores de NUL são feitas com o auxílio de equipamentos automatizados que utilizam metodologia colorimétrica-enzimática (urease)<sup>1</sup>, metodologia enzimática potenciométrica, onde a amônia produzida é detectada por eletrodos (LIMA et al., 1998) e espectrofotometria em infra-vermelho<sup>2</sup> (FERGUSON, 2001; GODDEN et al., 2001). Estes aparelhos conseguem realizar várias análises em pouco tempo, não requerem nenhuma etapa prévia destinada a desengordurar ou precipitar proteínas da amostra e fornecem resultados muito precisos.

Há poucos anos utilizava-se ainda o método colorimétrico do diacetilmonoxima, em procedimento automatizado, que incluía uma etapa para remover proteínas da amostra de leite. Havia também kits para determinação dos teores de uréia no plasma ou soro por meio de procedimentos não automatizados envolvendo o método em questão e se considerava que eles eram apropriados para análises no leite. Todavia, necessitava-se que a amostra fosse desproteïnizada previamente e as proteínas precipitadas separadas por filtração. No filtrado, então, eram feitas as determinações (HAMMOND, 1997).

---

<sup>1</sup> ChemeSpec 150 (Bentley Instruments)

<sup>2</sup> "Fossomatic 4000 Milk Analyser"(Foss North América)

Com a produção de kits comerciais para determinação dos teores de uréia no soro, plasma e urina utilizando-se metodologia colorimétrica e enzimática (urease), a técnica do diacetilmonoxima foi posta em desuso. Apesar dos kits colorimétricos e enzimáticos não serem formalmente indicados para a quantificação dos teores de uréia em amostras de leite, em alguns estudos eles foram utilizados (BUTLER et al., 1996; WITTWER et al., 1993; WITTWER et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2001; CAMPANILE et al., 1998), mas as amostras de leite eram previamente desproteinizadas (WITTWER et al., 1993; WITTWER et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2001) ou submetidas à centrifugação e posterior remoção da gordura, a fim de se eliminar a interferência desta na leitura em espectrofotômetro (BUTLER et al., 1996).

BUTLER et al. (1996) submeteram amostras pareadas de leite previamente desengorduradas (centrifugação) à determinação dos teores de nitrogênio uréico. Eles utilizaram um método automatizado baseado no diacetilmonoxima como padrão-ouro e, ao compararem tais resultados àqueles obtidos através de KITS URÉIA CE, constataram não haver diferença estatisticamente significativa para o nível de significância de 36%. Em vista disto, consideraram que apenas questões de conveniência e disponibilidade de equipamentos é que norteiam a escolha de um dos dois métodos. Os autores, contudo, deixaram de apresentar resultados de análises estatísticas para os níveis de significância de 1 % e 5 %, que geralmente são considerados.

Algumas diferenças nos resultados das determinações dos teores de NUL são observadas quando as mesmas amostras são analisadas por meio de procedimentos e laboratórios distintos (FAUST & KILMER, 1996; MOORE & VARGA, 1996).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Determinação dos teores de nitrogênio uréico no leite empregando-se kits comerciais recomendados para amostras de sangue e urina

Trinta e cinco animais hípidos, pertencentes a um rebanho mestiço, constituído de animais com predominância de grau de sangue holandês, foram submetidos a colheitas individuais de amostras de leite, durante a ordenha da manhã, antes da primeira alimentação do dia, com auxílio de coletores acoplados ao sistema de ordenha. Todo material coletado foi transportado até o Laboratório de Patologia Clínica do Departamento de Veterinária da UFV, onde foi mantido sob refrigeração até o processamento, que foi concluído até a manhã seguinte.

Inicialmente, foram retiradas cinco alíquotas de cada amostra de leite, das quais duas encaminhadas a diferentes laboratórios de referência para determinação dos teores de NUL por meio de metodologia enzimática (urease), em procedimento automatizado<sup>1</sup>. As demais foram submetidas à determinação dos teores de uréia empregando-se KITS URÉIA CE<sup>2</sup>, sendo os resultados convertidos em teores de NUL através da multiplicação por 0,4667. Entretanto, cada uma destas três alíquotas foi submetida previamente a procedimentos distintos (Figura 1), conforme se segue:

---

<sup>1</sup> “ChemeSpec 150” – Bentley Instruments

<sup>2</sup> Uréia CE – Labtest Diagnóstica S.A.

a) centrifugação (CENT) - nesse caso, tubos de ensaio contendo alíquotas de 10 ml de leite foram tampados com rolhas de borracha, posicionados de modo invertido na centrífuga, e submetidos à centrifugação por 30 minutos a 2300 x g. Após a separação da gordura na superfície do tubo, perfurou-se a rolha de borracha com uma agulha acoplada a uma seringa e o leite desengordurado foi aspirado para, finalmente, ser submetido à determinação dos teores de uréia.

b) desproteíntização com ácido acético glacial (ACET) – foram adicionadas quatro gotas de ácido acético glacial a um tubo contendo 5 ml de leite desengordurado, obtido pelo mesmo procedimento descrito acima. Após agitação, submeteu-se o material a uma nova centrifugação por mais 30 minutos a 2300 x g, porém sem inversão dos tubos, e o sobrenadante foi utilizado para as determinações propostas (Peixoto<sup>1</sup>, 2002 Comunicação pessoal).

c) precipitação com ácido tricloroacético a 25% (TCA) – adicionou-se 5 ml de ácido tricloroacético a 25% a 10 ml de leite e após a precipitação submeteu-se este material a filtração em papel de filtro, segundo metodologia descrita por OLIVEIRA et al. (2001). O filtrado resultante foi utilizado para a determinação dos teores de NUL, sendo necessária a multiplicação do valor obtido por 1,5 para descontar o efeito da diluição do volume de ácido adicionado à amostra.

Determinados os teores de nitrogênio uréico nas alíquotas de cada amostra de leite, inicialmente os dois laboratórios de referência (CLIN e BR) foram comparados utilizando-se o teste t para dados pareados com o objetivo de verificar a equivalência ou não entre os resultados por eles obtidos. Em seguida, utilizando-se a mesma análise estatística, os teores de NUL encontrados nas alíquotas submetidas aos procedimentos CENT, ACET e TCA e, em seguida analisados por meio de KITS UREIA CE, foram comparados aos resultados apresentados pelos laboratórios CLIN e BR. Por fim, foram calculados os coeficientes de correlação de Pearson entre os teores de NUL obtidos nas cinco alíquotas de cada amostra.

---

<sup>1</sup> Doutorando FMVZ / USP

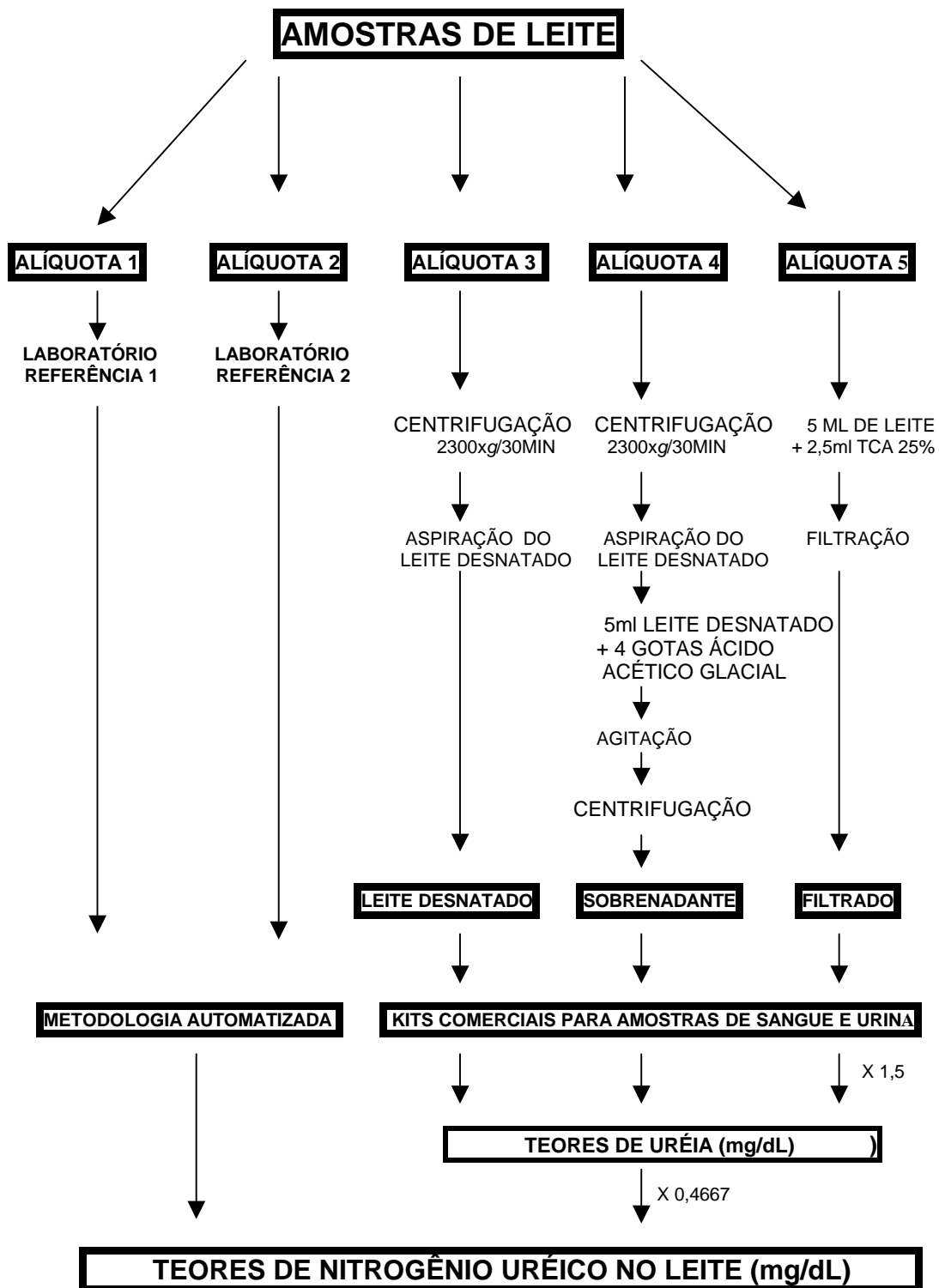


Figura 1 – Protocolo de divisão das amostras de leite em cinco alíquotas, das quais duas foram remetidas a laboratórios de referência distintos (metodologia automatizada) e as três outras submetidas a diferentes procedimentos (CENT, ACET e TCA) antes das determinações dos teores de nitrogênio uréico no leite utilizando-se kits comerciais recomendados para amostras de sangue e urina.

Todas as análises estatísticas aqui relacionadas, bem como as demais indicadas no item 3.2 desta pesquisa, foram feitas ao nível de 5% de probabilidade. Nos casos das correlações, o nível de 1% também foi considerado.

### **3.2. Teores de nitrogênio uréico no leite e no plasma de vacas mestiças**

Foram utilizadas dez propriedades rurais localizadas em Viçosa-MG e municípios vizinhos, todas com pelo menos três anos de dedicação à pecuária leiteira e produção diária compreendida entre 300 e 1000 litros. Em termos de composição racial dos rebanhos, nove fazendas exploravam animais mestiços holandês-zebu de diferentes graus de sangue e uma, mestiços pardo-suíço (Fazenda 7). A produção média diária de leite por vaca nas propriedades consideradas situava-se entre 13 e 24 litros.

As fazendas contavam com assistência técnica regular, adotavam práticas de manejo e de gerenciamento condizentes com níveis satisfatórios de tecnificação para a atividade, tais como: inseminação artificial, tanques resfriadores para leite, controle sanitário para garantir a higidez dos rebanhos e manejo alimentar claramente definido quanto ao fornecimento de volumosos e concentrados tanto para os lotes de vacas agrupadas conforme a produção de leite (lotes de produção)<sup>1</sup> quanto para as vacas secas. Em apenas uma delas (Fazenda 2), a ordenha não era mecanizada e em oito o manejo adotado para as vacas em lactação era semi intensivo, com os animais recebendo volumoso e concentrado no cocho ao longo do dia e à noite sendo liberados para o pasto. Duas, no entanto adotavam o sistema “free stall” (Fazendas 1 e 10).

O período de coleta de material estendeu-se de 10/09/2002 a 28/11/2002. No entanto, para cada fazenda, um único dia foi reservado para a obtenção de amostras de leite durante a primeira ordenha (04:00 às 06:00 hs) de todas as vacas em lactação há pelo menos 30 dias e, em paralelo, de amostras de sangue com anticoagulante<sup>2</sup> das vacas secas cuja previsão de parto não fosse inferior há 20 dias. Apenas animais hípidos de ambas as

---

<sup>1</sup> Lotes constituídos de acordo com a produção de leite, independentemente do período de lactação

<sup>2</sup> EDTA 10%

categorias foram incluídos na amostragem. Adicionalmente, ao final da ordenha, foi recolhida também uma amostra de leite do tanque de expansão, após ter havido adequada homogeneização do seu conteúdo. Este reunia sempre o volume de pelo menos duas ordenhas, incluindo-se aquela do dia da coleta.

Em cada propriedade, após a obtenção do material referido acima, foram ainda registradas as seguintes informações relativas aos lotes de vacas em lactação (Tabela 3) e secas (Tabela 5): número de animais; tipo de volumoso oferecido, quantidade de concentrado fornecida para cada animal e escore médio da condição corporal, este último conforme escala de 1 a 5 (WILDMAN et al., 1982). No caso das vacas em lactação, foram anotadas, também, a produção média diária e a relação entre a quantidade de concentrado fornecida e a produção de leite média dos lotes das diversas fazendas consideradas.

Em uma das propriedades (Fazenda 1), das mesmas vacas em lactação (n = 35), foram coletadas também amostras de sangue com anticoagulante<sup>1</sup> imediatamente após a ordenha da manhã e antes do fornecimento da primeira alimentação do dia.

As amostras individuais de leite e sangue obtidas foram transportadas até o Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da UFV, onde foram processadas objetivando determinar os teores de nitrogênio uréico. Para isto, foram empregados KITS URÉIA CE, sendo os resultados multiplicados por 0,4667 a fim de convertê-los a teores de NUL ou NUP, conforme o caso.

Antes que as amostras colhidas fossem submetidas às análises referidas acima, as de sangue total foram centrifugadas a 2300 x g por 20 minutos para separação do plasma e as de leite submetidas à precipitação em TCA a 25% seguida de filtração, tal como descrito no item 3.1.

Para os diversos lotes de produção dentro de cada propriedade, foram calculados os teores médios de NUL. Em seguida, objetivando-se caracterizar o comportamento do indicador bioquímico referido, os respectivos valores dos quadrados médios dos resíduos foram estimados e, por fim, foram construídos intervalos de confiança para os teores médios de NUL apresentados pelos

---

<sup>1</sup> EDTA 10%

lotes de produção, ao nível de confiança de 95%. Cada intervalo de confiança foi assim obtido:

$$IC(\mathbf{m}_j)_{0,95} : m_i \pm t_{0,05/2} \times \sqrt{\frac{QM Res_j}{r_i}}$$

Onde:

$m_i$  = média de NUL de cada lote de produção  $i$  da fazenda  $j$ ;

$t_{0,05/2}$  = valor tabelado a 5% de probabilidade com  $n'$  graus de liberdade do resíduo da fazenda  $j$ ;

$QMR_{es_j}$  = quadrado médio do resíduo da análise de variância da fazenda  $j$ ;

$r_i$  = número de amostra realizadas em cada lote  $i$  da fazenda  $j$ .

Independentemente de fazenda, os lotes de vacas em lactação foram agrupados em quatro categorias de acordo com a produção diária de leite: A:  $\geq 25$  Kg; B:  $< 25$  e  $\geq 20$  Kg; C:  $< 20$  e  $\geq 15$  Kg; D:  $< 15$  Kg. Em seguida, os teores médios de NUL correspondentes aos lotes de produção, incluídos nas categorias descritas acima, foram tomados e, a partir daí, calculados os teores médios de NUL para cada uma delas, bem como estimados seus respectivos intervalos de confiança, ao nível de 95% de confiança.

$$IC(\mathbf{m}_j)_{0,95} : m_j \pm t_{0,05/2} \times \frac{s_j}{\sqrt{r_j}}$$

Onde:

$m_j$  = teor médio de NUL da categoria de produção  $j$ ;

$t_{0,05/2}$  = valor tabelado do teste  $t$  a 5% de probabilidade com  $r_j - 1$  graus de liberdade;

$s_j$  = desvio padrão dos teores de NUL nos lotes de produção da categoria  $j$ ;

$r_j$  = número de lotes de produção na categoria de produção  $j$ .

Os teores médios de NUL de cada rebanho foram comparados aos valores de nitrogênio uréico obtidos nas amostras de leite dos respectivos tanques de expansão, por meio de teste  $t$  para dados pareados e submetidos a análises de correlação.

Na única propriedade onde foram colhidas amostras de leite e sangue das mesmas vacas, os teores de NUL e NUP encontrados foram comparados entre si utilizando-se o teste t para dados pareados.

Por fim, com base nos teores de NUP obtidos em cada lote de vacas secas, foram construídos intervalos de confiança para as médias populacionais, ao nível de confiança de 95%. Objetivou-se, com isto, caracterizar o comportamento do referido indicador bioquímico em vacas secas submetidas a diferentes manejos alimentares. Tais intervalos de confiança foram dados por:

$$IC(m_j)_{0,95} : m_j \pm t_{0,05/2} \times \frac{s_j}{\sqrt{r_j}}$$

Onde:

$m_j$  = teor médio de NUP de vacas secas na fazenda j

$t_{0,05/2}$  = valor tabelado do teste t a 5% de probabilidade com  $r_j - 1$  graus de liberdade;

$s_j$  = desvio padrão do teor de NUP de vacas secas na fazenda j

$r_j$  = número de vacas secas na fazenda j.

Como referência de normalidade para os teores médios de NUL, foi considerada a faixa de 12- 16 mg/dL, que é recomendada por pesquisadores de Cornell (HUTJENS, 1996; JONKER & KOHN, 1998).

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1. Determinação dos teores de nitrogênio uréico no leite empregando-se kits comerciais recomendados para amostras de sangue e urina**

Os teores de NUL encontrados nas amostras analisadas pelos dois laboratórios de referência (CLIN e BR) não foram equivalentes ( $P < 0,05$ ) (Tabela 1) mas, a despeito disto, os resultados apresentaram alta correlação ( $P < 0,01$ ) (Tabela 2). Sabidamente, diferenças podem ser observadas quando as mesmas amostras são submetidas a laboratórios distintos (MOORE & VARGA, 1996; KOHN, 2001; FAUST & KILMER, 1996) e, inclusive, para efeito de acompanhamento de rebanhos, FAUST & KILMER (1996) recomendam que o mesmo laboratório seja utilizado.

As alíquotas das amostras de leite submetidas previamente aos procedimentos CENT, ACET e TCA e posteriormente analisadas por meio de Kits colorimétricos-enzimáticos apresentaram teores de NUL altamente correlacionados entre si ( $P < 0,01$ ) e com os correspondentes obtidos em ambos laboratórios de referência (Tabela 2 e Figura 2). Isto permite validar o uso dos KITS URÉIA CE também para amostras de leite, independentemente de qual dos três procedimentos seja utilizado para a preparação da amostra.

Deve-se salientar, no entanto, que os teores de NUL encontrados nas amostras submetidas à precipitação em TCA não diferiram ( $P < 0,05$ ) dos obtidos por um dos laboratórios de referência (BR), fato este que não se verificou quanto aos procedimentos ACET ou CENT (Tabela 1). Além disso, a

precipitação com TCA, seguida de filtração, agiliza consideravelmente a preparação da amostra, na medida em que a centrifugação requerida pelos outros dois procedimentos é eliminada.

Tabela 1 – Teores médios de NUL (mg/dL) e comparações entre os procedimentos CENT, ACET e TCA com os laboratórios de referência CLIN e BR

	NUL MÉDIO	DIFERENÇA BR	DIFERENÇA CLIN
TCA	13,89	0,4371	2,4317*
CENT	14,53	1,0826*	3,0772*
ACET	12,38	1,0692*	0,9523*
BR	13,45	-	1,9945*
CLIN	11,46	1,9945*	-

\* significativo pelo teste t (P < 0,05).

Tabela 2 - Estimativas dos coeficientes de correlações entre os teores de NUL obtidos por meio de KITS URÉIA CE em amostras submetidas previamente aos procedimentos CENT, ACET e TCA, com os correspondentes determinados em dois laboratórios de referência CLIN e BR

	CLIN	BR	TCA	ACET	CENT
CLIN	-	0,95*	0,99*	0,98*	0,99*
BR		-	0,94*	0,91*	0,94*
TCA			-	0,98*	0,99*
ACET				-	0,99*
CENT					-

\* significativo pelo teste t (P < 0,01).

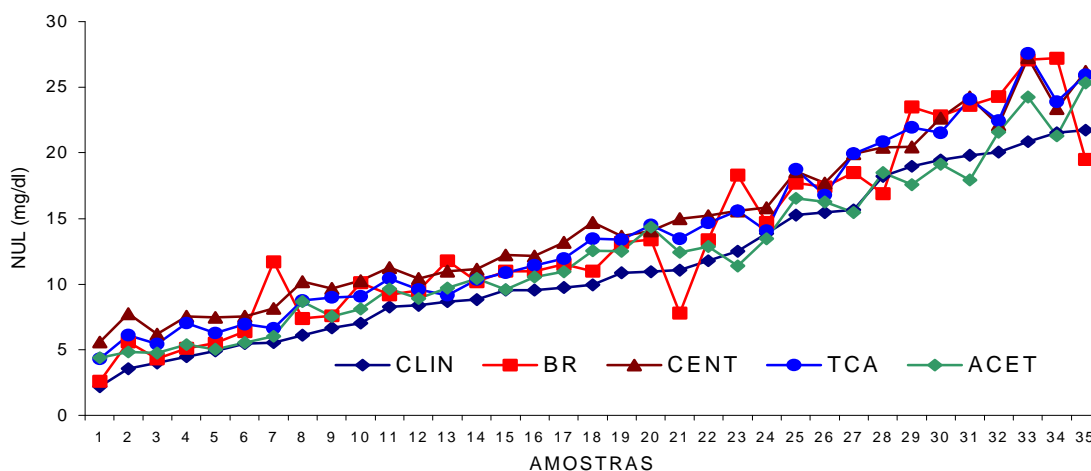


Figura 2 - Teores de NUL nas alíquotas das 35 amostras de leite, obtidos por metodologia automatizada em laboratórios de referência (CLIN e BR) e por meio de KITS URÉIA CE nas alíquotas previamente submetidas aos procedimentos CENT, ACET e TCA.

A relativa escassez de referências sobre a utilização de KITS URÉIA CE para quantificar os teores de uréia em amostras de leite (BUTLER et al., 1996; WITTEWER et al., 1993; WITTEWER et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2001; CAMPANILE et al., 1998) e a sua não indicação para estes fins por parte dos laboratórios produtores, foi um aspecto que chamou a atenção. Nesse sentido, faz-se mister salientar que BUTLER et al. (1996), comparando resultados obtidos em amostras pareadas submetidas a estes kits com metodologia de referência baseada na técnica do diacetilmonoxima, concluíram que ambos poderiam fornecer resultados equivalentes, mas o nível de confiabilidade considerado por eles nas análises estatísticas foi de apenas 64%.

A desproteinização com adição de ácidos era rotineiramente utilizada em amostras de leite para determinação dos teores de uréia quando estas análises empregavam kits baseados na metodologia do diacetilmonoxima (BRODERICK & CLAYTON, 1997; HAMMOND, 1997). Porém, em se tratando dos KITS URÉIA CE, outra fundamentação ocorre e não havia embasamento que assegurasse que os mesmos procedimentos outrora usados pudessem ser introduzidos. De fato, a metodologia colorimétrica-enzimática prevê, inicialmente, a adição de urease à amostra a ser analisada, o que acarreta a

hidrólise da uréia e liberação de  $\text{CO}_2$  e íons amônio. Em seguida, o meio é alcalinizado e a ele adiciona-se salicilato de sódio, nitroprussiato de sódio e hipoclorito de sódio, com os quais os íons amônio irão reagir dando origem a um composto cromógeno azul-esverdeado, cuja intensidade da cor formada é proporcional à concentração de uréia na amostra. Foi exatamente pelo fato de que esta reação se processa em meio alcalino é que se pensou, inicialmente, que a adição de ácidos envolvendo os procedimentos ACET e TCA pudesse não ser indicada, porquanto isto poderia interferir na etapa de alcalinização requerida e, em consequência, reduzir as concentrações do composto cromógeno formado, com óbvios reflexos nos resultados obtidos. Entretanto, pelo menos para as concentrações dos ácidos utilizadas, tal fenômeno não ocorreu.

#### **4.2. Teores de nitrogênio uréico no leite e no plasma de vacas mestiças**

Em seis propriedades (Fazendas 2, 3, 4, 7, 9 e 10), observou-se que todos os lotes de produção apresentaram teores médios de NUL muito inferiores a 12 mg/dL (Figura 3 e Tabela 3). Estes baixos teores de NUL observados indicam que as dietas destes animais não atendem suas exigências em termos de proteína ou nitrogênio. Nestas condições, muito provavelmente os animais não estejam usufruindo da sua total capacidade de síntese de proteína microbiana e, desta forma, não estejam atendendo ao padrão de eficiência de nutrição protéica em ruminantes definido por ROSELER et al. (1993) como sendo o suprimento adequado de nitrogênio para a flora microbiana e hospedeiro. Segundo WHITAKER et al. (1995), diante de baixos valores de NUL, deve-se elevar as quantidades de proteínas efetivamente degradadas no rúmen, quando há interesse de aumentar a produção de leite. Considerando-se a posição de destaque das fazendas onde foram realizadas as coletas das amostras utilizadas nesta pesquisa e os baixíssimos valores de NUL encontrados na maioria dos lotes de produção, torna-se imperativo que muitas outras também sejam submetidas à mesma análise, a fim de se decidir sobre correções que, muito provavelmente, terão de ser feitas na dieta dos seus animais. Nas condições observadas, se de um lado os produtores acreditam estar reduzindo custos para viabilizar sua atividade, de outro estão alimentando inadequadamente seus animais e, por conseguinte, deixando de explorar seu potencial de produção leiteira.

Lotes de produção com teores médios de NUL superiores a 16 mg/dL foram observados nas Fazendas 1, 6 e 8 (Figura 3), fato este sugestivo de inadequações na dieta fornecida no sentido de excesso de proteínas em termos absolutos ou relativos ao conteúdo de carboidratos fermentáveis na dieta (WHITAKER et al., 1995; MOORE & VARGA, 1996; HAMMOND, 1997; EICHER et al, 1999; FERGUSON, 2001; JONKER et al., 2002). Considerando-se que as amostras de leite foram coletadas durante a primeira ordenha do dia, portanto, antes do fornecimento de alimentos aos animais, a observação de teores elevados de NUL é significativa por si só, sobretudo por eles não representarem os valores de pico durante o dia (MOORE & VARGA, 1996). Segundo ELROD et al. (1993) a ocorrência de picos na concentração de

nitrogênio uréico no sangue ocorre cerca de 4 a 6 horas após a alimentação e GUSTAFSSON & PALMIQUIST (1993) observaram que a concentração de uréia presente no sangue demora cerca de 1 a 2 horas para equilibrar-se com a concentração de uréia no leite contido na cisterna da glândula mamária.

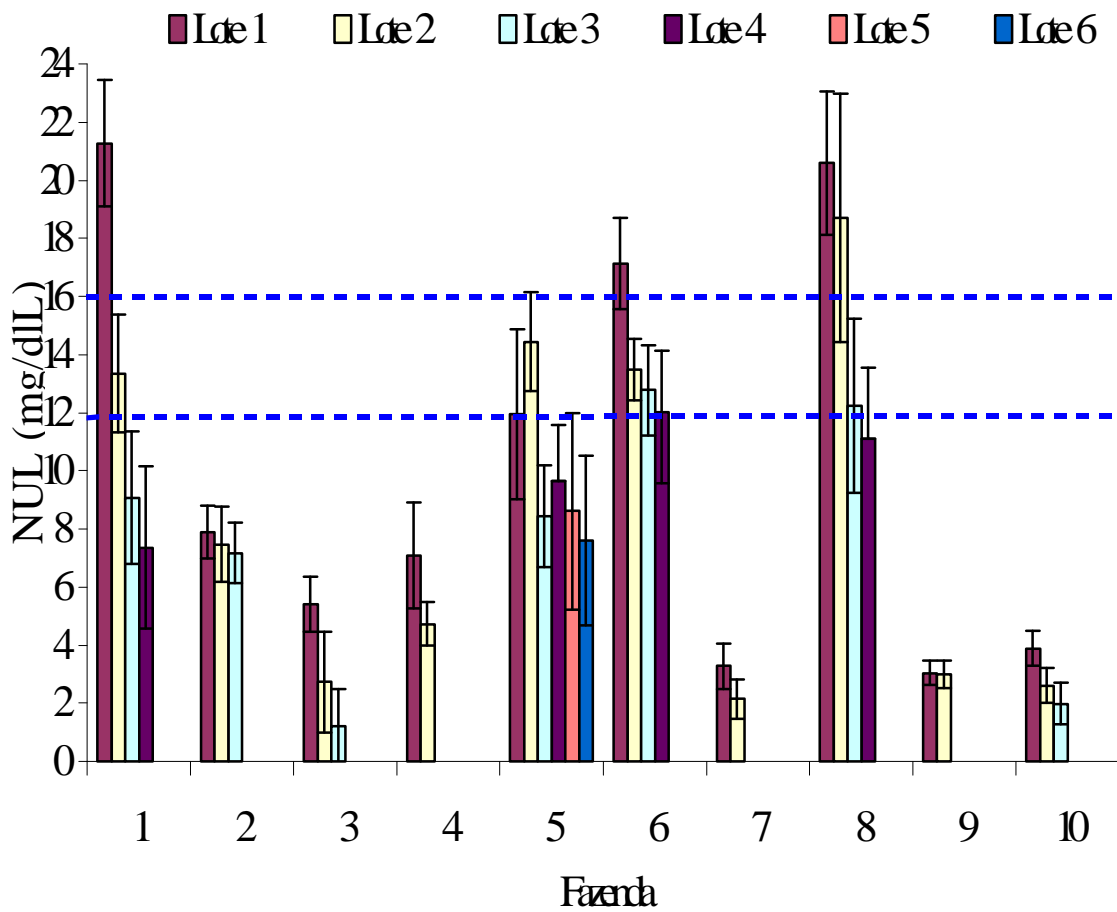


Figura 3 – Comparação entre os teores médios de nitrogênio uréico no leite (NUL) e os respectivos intervalos de confiança obtidos nos lotes de produção presentes nas dez propriedades estudadas e os valores de NUL considerados como referências de normalidade nesta pesquisa (12 a 16 mg/dL).

Tabela 3 – Teores médios de nitrogênio uréico do leite (NUL) e os respectivos intervalos de confiança (IC), escore médio da condição corporal (ECC), volumoso e concentrado, e relação entre o concentrado fornecido e a produção média de leite em diferentes lotes de produção em dez fazendas localizadas na região de Viçosa, MG

Fazenda <sup>a</sup>	Lote	Nº Animais	Volumoso <sup>b</sup>	Concentrado <sup>c</sup> (Kg/vaca/dia)	Média Leite (Kg)	Kg Concentrado / Kg Leite	ECC	NUL± IC (mg/dL)
1	1	10	S	10 Kg RF	30,73	1 / 3,07	4	21,27 ± 2,17
	2	10	S	5,7 Kg RF	16,34	1 / 2,9	4	13,35 ± 2,04
	3	9	S	3 Kg RF	9,38	1 / 3,12	4	9,07 ± 2,28
	4	6	S	2,3Kg RF	3,43	1 / 1,49	4	7,35 ± 2,8
2	1	8	CNU; P	5 Kg RC	19,2	1 / 3,84	3	7,90 ± 0,91
	2	4	CNU; P	4 Kg RC	14,8	1 / 3,7	3	7,47 ± 1,29
	3	6	CNU; P	3 Kg RC	11,97	1 / 3,99	3	7,17 ± 1,05
3	1	13	S; CP; P	7,5 Kg RC	22,52	1 / 3	2,5	5,40 ± 0,96
	2	4	S; CP; P	5,5 Kg RC	15,18	1 / 2,76	3	2,73 ± 1,73
	3	7	S; CP; P	3,5 Kg RC	10,79	1 / 3,08	3	1,19 ± 1,31
4	1	4	CNU; P	10 Kg RC	22,87	1 / 2,29	2,5	7,08 ± 1,82
	2	24	CNU; P	5 Kg RC	16,46	1 / 3,29	3	4,73 ± 0,75
5	1	4	S; P	12,5Kg RF+4,5Kg CA	29,88	1 / 2,39	3	11,95 ± 2,93
	2	12	S; CNU; P	7,2 KgRF+2,9Kg CA	25,05	1 / 3,48	3	14,44 ± 1,69
	3	11	S; CNU; P	9 Kg RF	21,68	1 / 2,40	3,5	8,45 ± 1,76
	4	9	S; CNU ; P	7,1 Kg RF	17,83	1 / 2,51	3,5	9,64 ± 1,95
	5	3	CNU; P	5,2 Kg RF	13	1 / 2,6	3,5	8,61 ± 3,38
	6	4	CNU; P	2,5 Kg RF	7,25	1 / 2,9	3,5	7,60 ± 2,93
6	1	11	S; P	11 Kg RC	25,82	1 / 2,34	4	17,13 ± 1,56
	2	10	S; P	8 Kg RC	20,1	1 / 2,23	4	13,43 ± 1,06
	3	11	S; CNU; P	6 Kg RC	15,05	1 / 2,5	4	12,77 ± 1,56
	4	6	CNU; P	4 Kg RC	9,75	1 / 2,43	4	12,02 ± 2,11
7	1	15	S; P	6,1 Kg RC	18,3	1 / 3	3	3,27 ± 0,78
	2	20	S; P	3,2 Kg RC	9,07	1 / 2,83	3	2,14 ± 0,68
8	1	9	S; CP; P	16,5 Kg RC	35	1 / 2,12	4	20,59 ± 2,46
	2	3	S; CP; P	10 Kg RC	30	1 / 3	4	18,70 ± 4,26
	3	6	CP; P	7,5 Kg RF	20	1 / 2,67	4	12,24 ± 3,01
	4	9	CP; P	4,7 Kg RF	11,9	1 / 2,53	4	11,11 ± 2,46
9	1	10	S; P	2,5 Kg RF	20,32	1 / 8,13	3	3,05 ± 0,43
	2	8	S; CNU; P	1,5 Kg RF	14,56	1 / 9,71	3	2,99 ± 0,48
10	1	17	S	5,88 Kg RC	18,65	1 / 3,17	2	3,65 ± 0,60
	2	16	S	5 Kg RC	13,56	1 / 2,71	2,5	2,61 ± 0,61
	3	12	S	2,3 Kg RC	5,98	1 / 2,6	2,5	1,98 ± 0,71

a) As fazendas 1 e 10 dispunham de “free stall” enquanto as demais adotavam manejo semi intensivo; a fazenda 7 explorava rebanho mestiço pardo-suíço e as demais mestiços holandês-zebu..

b) S - silagem de milho; CNU - cana e uréia; CP - capim picado; P - pasto.

c) RC - ração comercial; RF - ração formulada; CA - caroço de algodão.

Em todos os lotes que apresentaram altos teores de NUL (acima de 16 mg/dL), observou-se que os animais mostravam-se com escore médio da condição corporal equivalente a quatro (Tabela 3). Isto reforça a assertiva de que as dietas fornecidas encontravam-se superestimadas em relação às exigências de proteínas, sendo recomendável, portanto, que se acompanhe o desempenho reprodutivo destes lotes de animais e que seja reavaliada a dieta fornecida, principalmente em termos da relação proteína e energia. Diante das diversas conseqüências sobre a reprodução associadas aos altos teores de NUL (FERGUSON et al., 1993; LARSON et al., 1997; BUTLER, 1998; RAJALA-SCHULTZ et al., 2001), ELROD et al. (1993) e JONKER et al. (1999) entendem que os benefícios de se fornecer dietas com altos teores de proteínas aos animais de maior produção devem ser comparados aos possíveis efeitos negativos sobre a reprodução. Ademais, devem ser considerados outros aspectos indesejáveis relacionados ao fornecimento excessivo de proteínas, tais como, perdas econômicas (PERES, 2001), possíveis danos ao meio ambiente (JONKER et al., 2002) e ao sistema imunológico (LINN, 1998; HUTJENS, 1996; AMARAL-PHILIPS, 2002).

Independentemente da fazenda, quando os 33 lotes acompanhados foram estratificados em categorias segundo a produção média de leite (A, B, C e D), os teores de médios de NUL correspondentes apresentaram redução drástica quando se comparou a categoria A às demais. Sendo esta faixa constituída por lotes com produções médias superiores a 25 Kg de leite, pode-se deduzir que os produtores têm dedicado maior atenção às dietas apenas deste tipo de vacas (Figura 4). Por outro lado, considerando-se os intervalos de confiança para as médias de NUL em cada faixa de produção, (A=17,35 ± 3,79; B= 8,28 ± 4,18; C = 7,29 ± 3,58 e D = 6,25 ± 2,21) constatou-se que também a categoria B poderia atingir os teores de NUL preconizados de 12-16 mg/dL. Uma possível explicação para os elevados teores de NUL observados nos lotes de vacas, com produção média diária superior a 25 Kg de leite, pode estar na tendência de se fornecer rações com elevados teores de proteínas para vacas de maior produção, conforme GODDEN et al. (2001) verificaram.

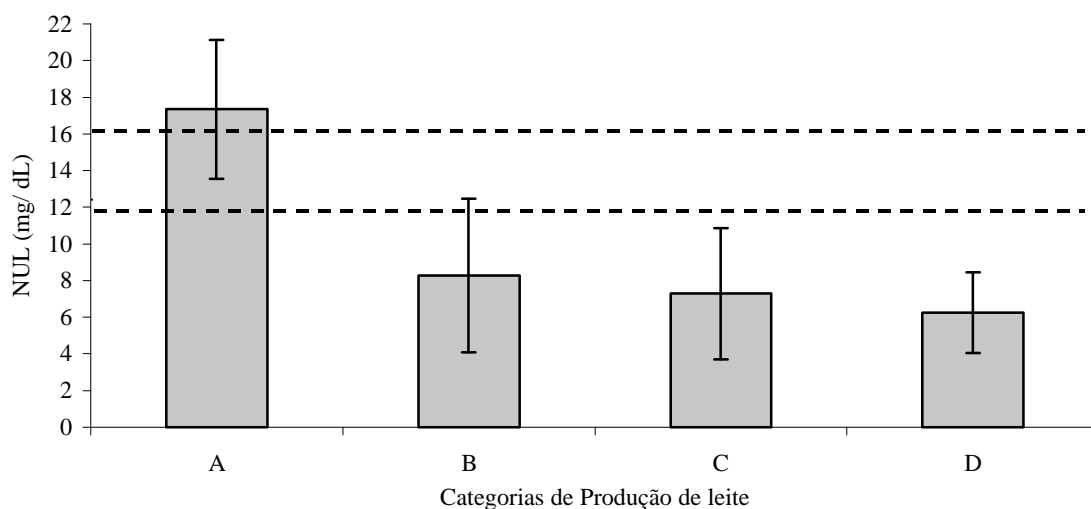


Figura 4 -Teores médios de NUL e respectivos intervalos de confiança, sob agrupamentos de lotes segundo a categoria de produção de leite (A  $\geq 25$  Kg; B  $< 25$  e  $\geq 20$  Kg; C  $< 20$  e  $\geq 15$  Kg e D  $< 5$  Kg).

Os teores médios de NUL dos agrupamentos de lotes de vacas das diversas fazendas em categorias de produção apresentaram grande amplitude dos respectivos intervalos de confiança (Figura 4). Dentre os prováveis fatores determinantes desta variação, ressaltam-se as diferentes práticas de manejo e nutrição adotadas para rebanhos com potencial de produção de leite semelhantes nas propriedades consideradas (Tabela 3). EICHER et al. (1999) também observaram fenômeno semelhante e WARD (2000) relatou que, em geral, os progressos na seleção genética para produção de leite superaram os mesmos em manejo, qualidade e quantidade dos alimentos fornecidos. Na presente pesquisa, talvez os lotes que apresentaram os menores teores médios de NUL dentro de uma mesma faixa de produção não estivessem submetidos a manejos adequados à expressão da totalidade de seu potencial genético.

Os teores médios de NUL de cada rebanho e os valores encontrados em amostras dos respectivos tanques de expansão foram equivalentes em quatro dentre dez propriedades consideradas (Tabela 4) e apresentaram-se altamente correlacionados ( $r = 0,98$ ) considerando-se todas elas (Figura 5). Estudos similares, em diferentes climas e regiões, evidenciaram correlações

que variaram de 0,77 ( REFSDAL, 1983) a 0,95 (WITTEWER et al. ,1999). Isto significa que, também em fazendas que exploram animais mestiços para fins leiteiros, tais como as que foram utilizadas nesta pesquisa, determinações dos teores de NUL feitas em amostras obtidas de tanques de expansão podem expressar, com bastante aproximação, os reais valores médios encontrados para os respectivos rebanhos.

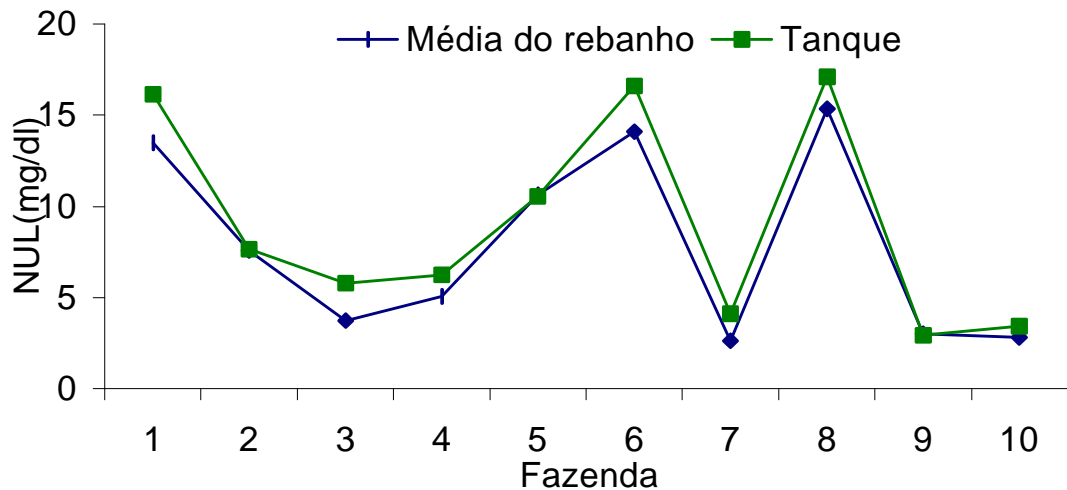


Figura 5 – Teores médios de nitrogênio uréico do leite (NUL) calculados em diferentes fazendas e valores encontrados nas amostras recolhidas dos respectivos tanques de expansão.

Nas sete propriedades (Fazendas 2, 3, 4, 5, 7, 9 e 10) em que os teores de NUL determinados nas amostras dos tanques de expansão apresentaram-se inferiores a 12 mg/dL, havia um total de 21 lotes de produção, dos quais 20 (95,2 %) apresentaram comportamento semelhante quanto aos respectivos teores médios de NUL. Por outro lado, nas fazendas em que os teores de NUL dos tanques apresentaram-se superiores a 16 mg/dL, havia pelo menos um dos lotes de produção ( $n = 4$ ) exibindo teor médio de NUL acima do referido valor, embora também houvessem outros com valores entre 12 e 16 mg/dL ( $n = 4$ ) ou inferiores a 12 mg/dL ( $n = 4$ ) (Figura 6).

Nas condições da presente investigação, os baixos teores de NUL determinados em amostras de tanque prestaram-se para a finalidade de indicar rebanhos nos quais seus lotes de produção também apresentavam baixos teores de NUL e que possivelmente se achavam submetidos a dietas com

deficiências protéicas. Valores elevados, por outro lado, indicaram apenas que colheitas de amostras individuais de leite em vacas de cada lote deveriam ser implementadas no sentido de apontar aquele(s) que apresentava(m) teores médios de NUL alto(s). A rigor, esta observação acha-se em consonância com DePETERS & FERGUSON (1992), que chamam a atenção para o fato de que em rebanhos nos quais haja problemas grosseiros com excesso ou deficiência de proteínas atingindo uma alta percentagem dos animais, as análises feitas em amostras de tanques podem ser adequadas para fins de identificação dos mesmos.

Tabela 4 – Teores médios de NUL calculados para cada um dos dez rebanhos mestiços estudados e os respectivos valores encontrados em amostras colhidas dos tanques de expansão

Fazenda	Tanque (mg/dL)	Média (mg/dL)
1	16,14	13,48*
2	7,67	7,56
3	5,78	3,73*
4	6,26	5,07*
5	10,56	10,63
6	16,60	14,09*
7	4,12	2,62*
8	17,09	15,36
9	2,93	3,02
10	3,43	2,84*

\*significativos pelo teste t (P < 0,05)

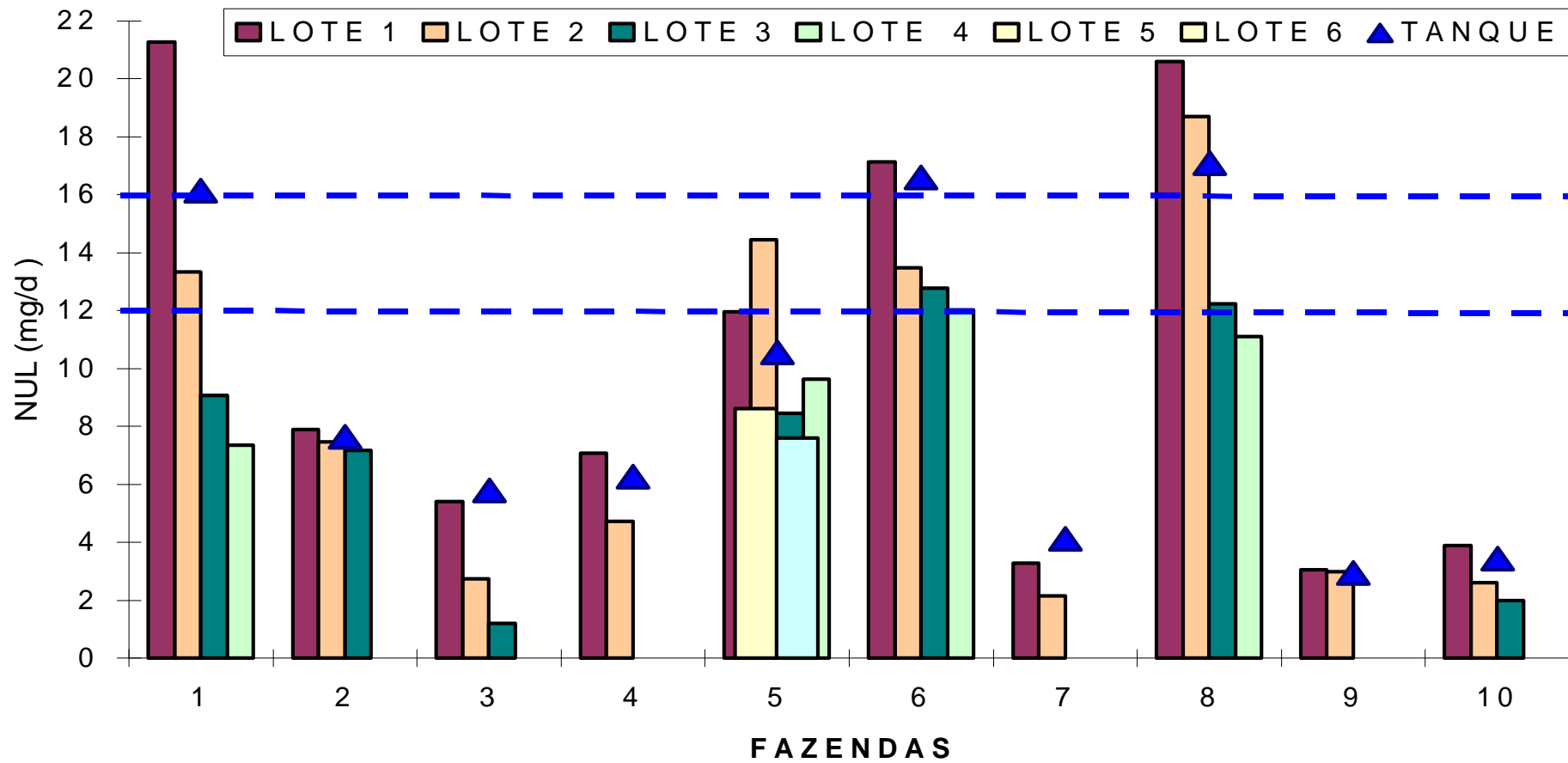


Figura 6 – Teores de nitrogênio uréico no leite (NUL) dos lotes de produção dentro de cada propriedade e nas respectivas amostras dos tanques de expansão

Na medida em o excesso de proteínas na dieta das vacas é a preocupação maior nos países de pecuária leiteira mais avançada (MOORE & VARGA, 1996; HAMMOND, 1997; BUTLER, 1998; PERES, 2001; AMARAL-PHILIPS, 2002; JONKER et al.,2002), as determinações dos teores de NUL feitas em tanques de expansão são consideradas incapazes de apontar, naquelas propriedades, a existência de lotes de produção cujos teores médios de NUL estejam fora das faixas preconizadas. Neste caso, lotes com valores altos podem ser mascarados por outros em que os teores de NUL se apresentem baixos, e vice-versa (DePETERS & FERGUSON, 1992; KOHN, 2001). Por isso, as referidas análises têm sido indicadas somente quando se deseja iniciar uma avaliação dos referidos parâmetros em um rebanho (WHITWER et al., 1993; HAMMOND, 1997; SCHEPERS & MEIJER, 1998; KOHN, 2001). Todavia, esta não é a nossa realidade.

Na única propriedade em que foram colhidas amostras de leite e sangue das vacas em lactação, os resultados referentes aos teores médios de NUL e NUP (n = 35) não diferiram entre si ( $P < 0,05$ ) e foram de 13,8 e 13,7mg/dL, respectivamente (Figura 7).

GUSTAFSSON & PALMQUIST (1993) observaram que 1,5 a 2 horas após as concentrações de amônia rumenal alcançarem um pico, os níveis de uréia plasmáticos atingiram um valor máximo. A partir daí, mais 1 a 2 hs foram necessárias para que o mesmo viesse a ocorrer com os teores de uréia no leite. Estes achados são consistentes com a necessidade de um período para que a uréia possa difundir-se através dos ductos e túbulos da glândula mamária e seus níveis no leite possam entrar em equilíbrio com aqueles do plasma. Portanto, como as amostras de leite e sangue foram colhidas antes que os animais recebessem sua primeira alimentação (por volta das 4 – 6 hs), seria de se esperar que realmente as concentrações de NUP e NUL fossem equivalentes. Diante da falta de informações na literatura a respeito das faixas desejáveis para NUP em vacas secas e tendo-se demonstrado que NUL e NUP se equivalem para as condições definidas neste experimento, o mesmo intervalo de 12 a 16 mg/dL utilizado para NUL foi tomado como referência também para esta categoria de animais.

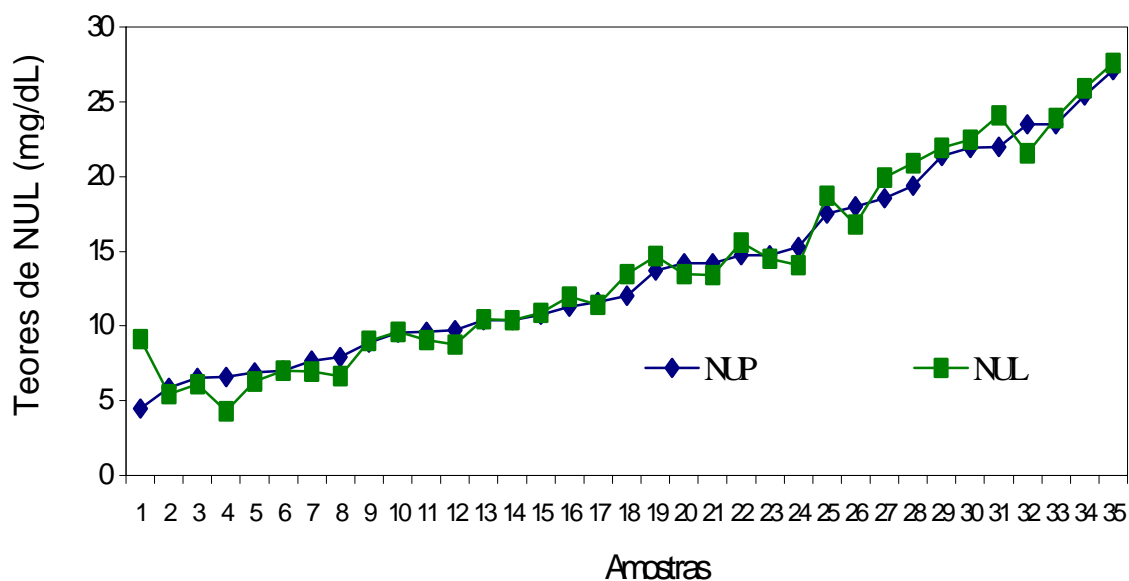


Figura 7 - Teores de nitrogênio uréico em amostras pareadas (n = 35) de leite (NUL) e plasma (NUP) de vacas ante do fornecimento da primeira alimentação do dia.

BUTLER et al. (1996) também não verificaram diferenças entre os teores de NUL e NUP quando amostras de sangue foram coletadas cerca de 30 a 45 minutos após a ordenha ( $P = 0,16$ ). Entretanto, os autores não informaram o horário da coleta e tampouco sua relação com a alimentação dos animais. Além disso, o nível de probabilidade para o qual as amostras foram equivalentes é muito superior aos 5 % convencionalmente adotados. Estes autores mencionaram que Frajblat e Butler (dados não publicados) também não constataram diferenças estatísticas entre NUL e NUP em amostras coletadas simultaneamente, mas não se referiram ao nível de probabilidade considerado nem ao momento da coleta.

Os teores médios de NUP considerando-se os respectivos intervalos de confiança observados para os lotes de vacas secas, em diferentes propriedades e à exceção das fazendas 2, 3, 5 e 7, mostraram-se abaixo dos 12 mg/dL (Figura 8). Isto demonstrou que esta categoria de animais, nas propriedades da região, também não estava recebendo níveis de proteína na dieta compatíveis com suas exigências. Em linhas gerais, cabe para os teores de NUP a mesma

discussão feita para os teores de NUL no que concerne à necessidade de adequações na dieta protéico energética e a visão prospectiva envolvendo as demais fazendas que também se dedicam à pecuária leiteira.

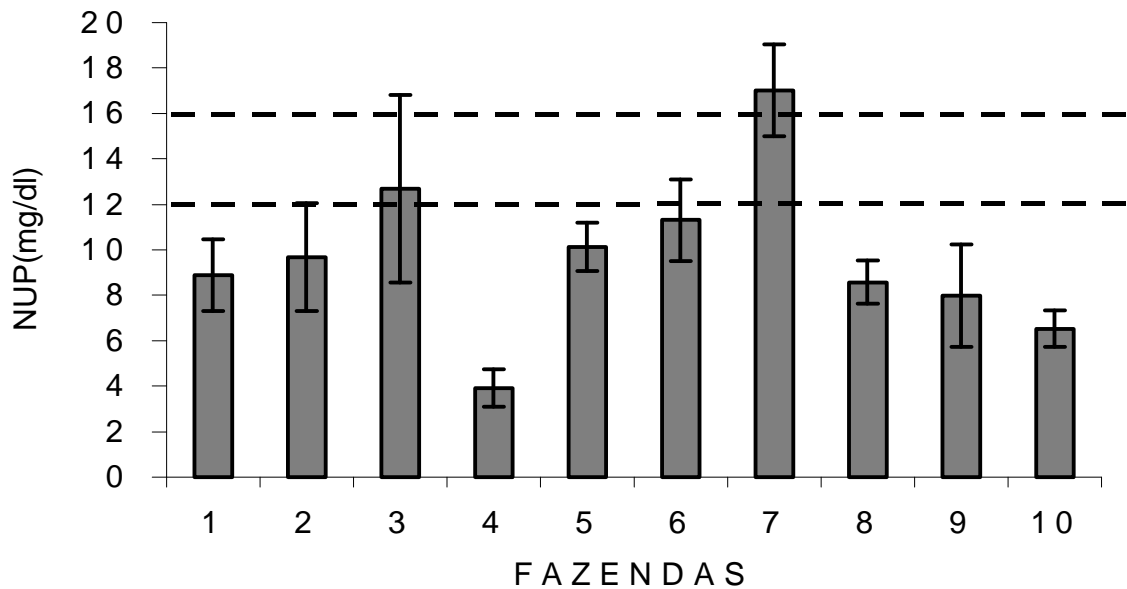


Figura 8 - Teores médios de nitrogênio uréico no plasma (NUP) e respectivos intervalos de confiança observados em lotes de vacas secas dentro de cada propriedade.

É possível que a dependência da pastagem para a dieta destas vacas, na maioria das fazendas (Tabela 5), seja a explicação, porquanto a forragem disponível apresentava características que indicavam perda de qualidade ocasionada pela escassez de chuvas no período. Nos lotes de vacas secas alimentadas com misturas de cana com uréia, com ou sem suplementação com concentrados, apenas na fazenda 7 os teores médios de NUP achavam-se muito elevados (17,01 mg/dL), mas nela havia também abundante fornecimento de capim tenro como parte do volumoso fornecido. Outro aspecto a considerar neste caso é que a referida propriedade era a única que explorava animais mestiços pardo-suiço, que também poderiam ter exigências nutricionais diferenciadas de mestiços holandês-zebu. Sobre a fazenda 3, que apresentava teores médios de NUP tidos como adequados e dependia exclusivamente da

pastagem para alimentar suas vacas, não foi possível encontrar uma explicação considerando-se os dados registrados.

Tabela 5 - Caracterização dos lotes de vacas secas, dentro de cada propriedade quanto ao número de animais, alimentação (volumoso e concentrado) e escore médio da condição corporal (ECC) e teores médios de NUP e seus respectivos intervalos de confiança para a média (IC)

Fazenda <sup>a</sup>	N <sup>o</sup> Vacas Secas	Volumoso <sup>b</sup>	Concentrado <sup>c</sup> (Kg/ vaca/ dia)	ECC	NUL ± IC (mg/dL)
1	10	CNU	2 Kg RF	4	8,89 ± 1,58
2	13	CNU; P	1 Kg RC	3,5	9,68 ± 2,38
3	10	P	-	3	12,69 ± 4,12
4	3	CNU; P	-	3	3,93 ± 0,82
5	10	P	-	3,5	10,13 ± 1,07
6	3	P	-	3,5	11,31 ± 1,8
7	9	CNU; CP	-	3,5	17,01 ± 2,02
8	8	P	2 Kg RF	4	8,58 ± 0,95
9	9	CNU; P	-	3,5	7,97 ± 2,25
10	9	S; P	1,5 Kg FT	2,5	6,53 ± 0,81

a) A fazenda 7 explorava rebanho leiteiro mestiço pardo-suiço enquanto as demais mestiços holândes- zebu;

A fazenda 1 foi a única a manter o lote de vacas secas em sistema "free stall", as demais utilizavam manejos extensivo ou semi-intensivo;

b) S - silagem de milho; CP - capim picado; CNU - cana com uréia; P – pastagem;

c) RC - ração comercial; RF - ração formulada; FT - farelo de trigo.

Na prática de campo, é comum a utilização do escore médio da condição corporal das vacas secas para monitorar a adequação da dieta que lhes é fornecida. Nas fazendas visitadas para colheita de dados, constatou-se que mesmo em lotes que apresentavam escores médios da condição corporal tidos como adequados ou mesmo elevados, foram encontrados teores médios de NUP inferiores aos recomendados (Tabela 5). Estes resultados confirmam a hipótese formulada por WHITAKER et al. (1995) de que a pesquisa de NUP poderá contribuir para ajustar o fornecimento de proteínas e carboidratos a vacas secas.

## 5. CONCLUSÕES

- i) Kits comerciais colorimétricos e enzimáticos (urease), recomendados para determinações em sangue ou urina, fornecem resultados equivalentes àqueles obtidos em laboratórios de referência (metodologia automatizada), quando são utilizados para amostras de leite previamente submetidas à precipitação com ácido tricloracético a 25 % seguida de filtração(TCA).
- ii) Os procedimentos de precipitação com ácido acético glacial ou centrifugação de amostras de leite, visando determinação dos respectivos teores de uréia através de kits comerciais recomendados para sangue e urina, são mais trabalhosos que o TCA e conduzem a resultados estatisticamente diferentes daqueles obtidos por laboratórios de referência. Apesar disto, são altamente correlacionados aos demais.
- iii) Em rebanhos constituídos de animais mestiços de raças leiteiras, apenas lotes de vacas com produções médias diárias superiores a 20 - 25 Kg de leite requerem atenção em termos de perdas de proteínas oferecidas na dieta e suas conseqüências.
- iv) Nas fazendas que se dedicam a pecuária leiteira e exploram animais mestiços, constatam-se inadequações em relação às dietas protéicas utilizadas.

Estas são traduzidas, quase invariavelmente, por baixíssimas concentrações de NUL e NUP na maioria dos lotes de vacas em lactação e secas, respectivamente.

v) Nas condições da presente pesquisa, quando os teores de NUL determinados em amostras de tanque de expansão forem inferiores a 12 mg/dL, provavelmente todos os lotes de produção das respectivas propriedades também apresentarão baixos teores médios de NUL. No entanto, quando os teores de NUL das amostras dos tanques de expansão forem superiores a 16 mg/dL, haverá necessidade de se proceder a colheitas de amostras individuais de leite das vacas dos lotes de produção com a finalidade de identificar aqueles que apresentem teores médios de NUL elevados.

## 6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL-PHILLIPS, D. M. **Milk urea nitrogen. A nutritional evaluation tool.**

Capturado em 25 set. 2002. Online. Disponível na Internet:  
<http://www.uky.edu/Agriculture/AnimalScience/dairy/extension/dairynutindex.html#diagnuttprob>

BAKER, L. D.; FERGUSON, J. D.; CHALUPA, W. Responses in urea and true protein of milk to different protein feeding schemes for dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.78, n.11, p.2424-2434, 1995.

BRODERCK, G. A.; CLAYTON, M. K. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.11, p.2964-2971, 1997.

BUTLER, W. R.; CALAMAN, J. J.; BEAN, S. W. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v.74, n.4, p.858-865, 1996.

BUTLER, W. R. Review. Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.9, p.2533-2539, 1998.

- BUTLER, W. R.; SMITH, R. D. Interrelationship between energy balance on postpartum reproductive function in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.72, n.3 , p.767-783, 1989.
- CAMPANILE, G.; DEFILIPPO, C.; DIPALO, R. et al. Influence of dietary protein on urea levels in blood and milk of buffalo cows. **Livestock Production Science**, v.55, n.2, p.134-143, 1998.
- DePETERS, E. J.; FERGUSON, J. D. Nonprotein nitrogen and protein distribution in the milk of cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.11, p.3192-3209, 1992.
- EICHER, R.; BOUCHARD, E.; BIGRAS-POULIN, M. Factors affecting milk urea nitrogen and protein concentration in Quebec dairy cows. **Preventive Veterinary Medicine**, v.39, n.1, p.53-63, 1999.
- ELROD, C. C.; VAN AMBURGH, M.; BUTLER, W. R. Alterations of pH in response to dietary protein in cattle are unique to the uterus. **Journal of Animal Science**, v.71,n.3, p.702- 706, 1993.
- FAUST, M. A.; KILMER, L. H. **Determining variability of milk urea nitrogen reported by commercial testing laboratories**. 1996. Online: Disponível na Internet: <http://www.ans.iastate.edu/ext/dairy/report96/extension/dsl-77.pdf>
- FERGUSON, J. D.; CHALLUPA, W. Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.72, n.3, p.746-766, 1989.
- FERGUSON, J. D.; GALLIGAN, T. B.; REEVES, M. Serum urea nitrogen and conception rate: the usefulness of test information. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.7, p.3472-3746, 1993.
- FERGUSON, J. D. **Milk urea nitrogen**. Capturado em 23 mar. 2001. Online. Disponível na internet. Online: <http://www.vet.upenn.edu/mun/mun-info.html>

- GODDEN, S. M.; LISSEMORE, K. D.; KELTON, D. F et al. Factors associated with milk urea concentrations in Ontario dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.1, p.107-114, 2001.
- GUSTAFSOON, A. H.; CARLSSON, J. Effects of silage quality, protein evaluation system and milk yield and reproduction in dairy cows. **Livestock Production Science** , v.37,n.1-2 ,p.91-105, 1993.
- GUSTAFSOON, A. H.; PALMIQUIST, D. L. Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea ,and milk urea in dairy cows at high and low yields. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.2, p.475-484, 1993.
- HAMMOND, A. C. **Update on BUN and MUN as a guide for protein supplementation in cattle**. In: FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 1997. Gainesville: University of Florida. **PROCEEDINGS ...** Capturado em 8 ago. 2002. Online. Disponível na Internet: <http://www.ifas.ufl.edu/~dairyweb/pub/symp.htm>.
- HARRIS Jr, B. MUN and BUN values can be valuable management tools. **Feedstuffs**, v.67, n.42, p14, 1995.
- HOF, G.; VERVOORN, M. D.;LENAERS,P. J. et al. Milk urea nitrogen as a tool to monitor the protein nutrition of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.12, p.3333-3340, 1997.
- HUTJENS, M. F. **MUN as a management tool**.1996. Capturado em 12 de agosto de 2002. Online. Disponível na internet: <http://www.aces.uiuc.edu/~system/dairyrep96/Hutjens>.
- HUTJENS, M. F.; BARMORE, J. Milk urea test gives us another tool. **Hoards Dairyman**, v.140, n.10, p.401, 1995.

- JONKER, J. S.; KOHN, R. A.; ERDMAN, R. A. Milk urea nitrogen target concentrations for lactating dairy cows fed according to National Research Council recommendations. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.6, p.1261-1273, 1999.
- JONKER, J. S.; KOHN, R. A.; ERDMAN, R. A. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.10, p.2681-2692, 1998.
- JONKER, J. S.; KOHN, R. A.; HIGH, J. Use of milk urea nitrogen to improve dairy cow diets. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.4, p.939-946, 2002.
- JONKER, J. S.; KOHN, R. A. MUN testing: useful but ambiguous. **Hoard's Dairyman**, v.143, n.6, p.252, 1998.
- KAUFFMAN, A. J.; St-PIERRE, N. R. The relationship of milk urea nitrogen to urine nitrogen excretion in holstein and jersey cows. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.10, p.2284-2294, 2001.
- KOHN, R. A.; KALSCHEUR, K. F.; RUSSEK-COHEN, E. Evaluation of models to estimate urinary nitrogen and expected milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.1, p.227-233, 2002
- KOHN, R. A. **Milk urea nitrogen**. 13 nov. 2001. Capturado em 7 out. 2002. Online. Disponível na Internet: <http://www.inform.umd.edu/ManureNet/MUN/MUN.htm>
- LARSON, S. F.; BUTLER, W. R.; CURRIE, W. B. Reduced fertility associated with low progesterone postbreeding and increase milk urea nitrogen in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.7, p.1288-1295, 1997.

- LIMA, J. L. F. C.; DELERUE-MATOS, C.; VAZ, M. C. V. F. Flow injection system with potentiometric detection for the determination of urea contents in milks. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, n.4, p.1386-1389, 1998.
- LINN, D. This ration change lowered SCC's. **Hoard's Dairyman**, v.143, n.14, p.138, 1998.
- LYATUU, E. T.; EASTRIDGE, M. L. **Nutritional factors affecting milk production, milk composition, milk urea nitrogen, and plasma urea nitrogen**. Capturado em 07 out. 2002. Online. Disponível na internet: <http://ohioline.osu.edu/sc163/sc163-11.html>
- MACMILLAN, K. L.; LEAN, I. J., WESTWOOD, C. T. The effects of lactation on fertility of dairy cows. **Australian Veterinary Journal**, v.73, n.4, p.141-147, 1996.
- MOORE, D. A.; VARGA, G. BUN and MUN: urea nitrogen testing in dairy cattle. **Compendium on Continuing Education for Practicing Veterinarian**, v.18, n.6, p.712-721, 1996.
- OLIVEIRA, A. S; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO,S. C.; CECON, P. R.; RENNÓ, L. N.; QUEIROZ, A. C.; CHIZZOTTI, M. L. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações isoprotéicas contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1621-1629, 2001.
- OLTNER, R.; EMANUELSON, M.; WIKTORSSON, H. Urea concentrations in milk in relation to milk yield, live weight, lactation number and amount and composition of feed given to dairy cows. **Livestock Production Science**, v.12, n.1 , p.47-57, 1985.

- PERES, J. R. **Níveis de uréia no sangue (plasma) de vacas mestiças em pastejo rotacionado.** 13 dez.2001. Online. Disponível na internet: <http://www.milkpoint.com.br/mn/radarestecnicos/artigos.asp?area=17&areade>
- RAJALA-SHULTZ, P. J.; SAILLE, W. J. A.; FRAZER, G. S. et al. Association between milk urea nitrogen and fertility in Ohio dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.2, p.482-489, 2001.
- REFSDAL, A. O. Urea in bulk milk as compared to the herd mean of urea in blood. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.24, n.4, p.518-520, 1983.
- ROSELER, D. K.; FERGUSON, J. D.; SNIFFEN, C. J. et al. Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.1, p.525-534, 1993
- SCHEPERS, A. J.; MEIJER, R. G. M. Evaluation of the utilization of dietary nitrogen by dairy cows based on urea concentration in milk. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.2, p.579-584, 1998.
- SOCORRO, E. P., PAULA, B. J. A., NEVES, A. P. et al. Influência da proteína bruta e do NDT da dieta no teor de uréia do leite em rebanhos leiteiros do Recôncavo Baiano. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.2, p.74-80, 2001. Capturado em 13 jun. 2002. Online. Disponível na Internet: <http://rbspa.ufba.br/html/29.htm>
- TAMMINGA, S. Nutrition management of dairy cows as a contribution to pollution control. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.1, p.345-357, 1992.
- TILMAN, D.; KENNETH, G. C.; MATSONS, R.N. et al. Agricultural sustainability and intensive production practices. **Nature**, v.418,n.6898, p.671-677, 2002.

- TREVASKIS, L.M.;FULKERSON, .J. The relationship between various animal and management factors and milk urea, and its association with reproductive performance of dairy cows grazing pasture. **Livestock Production Science**, v.57, n.3, p.255-265, 1999.
- WARD, W. R. Fertility and dietary energy and protein in dairy cows. **Cattle Practice**, v.8, n.4, p.383-389, 2000.
- WESTWOOD, C. T.; LEAN, I. J.; KELLAWAY, R.C. Indications and implications for testing of milk urea in dairy cattle: A quantitative review. Part 2. Effects of dietary protein on reproductive performance. **New Zealand Veterinary Journal**, v.46, n.4, p.123-130,1998
- WILDMAN, E. E.; JONES, G. M.; WAGNER, R. E.; BOMAN, R .L.; TROUT Jr, H .F.; LESCH, T. N. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected productions characteristics. **Journal of Dairy Science**, v.65, n.3, p.495-501, 1982.
- WHITAKER, D. A.; KELLY, J. M.; EAYRES, H. F. Assessing dairy cows diets through milk urea test .**The Veterinary Record**, v.136, n.7, p.179-180, 1995.
- WITTWER, F. G.; GALLARDO, P.; REYES, J. et al. Bulk milk urea concentrations and their relationships with cow fertility in grazing dairy herds in Southern Chile. **Preventive Veterinary Medicine**, v.38, n.2-3, p.159-166 ,1999.
- WITTWER, F. G.; REYES, J.; OPITZ, H. et al. Determinación de urea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. **Archivos de Medicina Veterinaria.**, v.25, n.2, p.165-172, 1993.

YOUNG, A. **Milk urea nitrogen test (MUN)**. Logan, dezembro 2001.  
Capturado em 18 set. 2002. Online. Disponível na Internet:  
<http://extension.usu.edu/publica/agpubs.htm>.